Aus dem Institut für
Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. A. Schmid

UNTERSUCHUNG VON CHROM(III)-, COBALT(II)-, CER(III)- UND QUECKSILBER(I)-IONEN AUF RADIKALBILDENDE EIGENSCHAFTEN IN VIVO

Inaugural — Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Alfred FRIEDRICH
aus
Oggelshausen

München 1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547028_0032

Aus dem Institut für
Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. A. Schmid

UNTERSUCHUNG VON CHROM(III)-, COBALT(II)-, CER(III)- UND QUECKSILBER(I)-IONEN AUF RADIKALBILDENDE EIGENSCHAFTEN IN VIVO

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Alfred FRIEDRICH
aus
Oggelshausen

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. A. Schmid

Korreferent: Prof. Dr. M. Merkenschlager

Tag der Promotion: 27. Februar 1981

UNIV. LEIDEN BIBL.

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS Seite

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Radikalchemie und Lipidperoxidation	3
1.1.	Einführung in die Radikalchemie	3
1.1.1.	Begriffsbestimmung	3
1.1.2.	Entstehung von Radikalen in vivo	3
1.2.	Lipidperoxidation	5
1.2.1.	Begriffsbestimmung	5
1.2.2.	Chemie der Lipidperoxidation	5
1.2.3.	Zellpathologische Effekte der Lipidperoxidation	7
1.3.	Schutzmechanismen des Organismus gegen Radikale und Peroxide	9
1.3.1.	Inhibitoren	9
1.3.2.	Enzyme	10
1.4.	Messung der Lipidperoxidation	11
1.4.1.	In-vitro-Messung	11
1.4.2.	In-vivo-Messung	12
1.5.	Übergangsmetalle als Radikalbildner und Lipidperoxidationsinduktoren	12
2.	Untersuchte Schwermetalle	15
2.1.	Chrom	15
2.1.1.	Chemische und physikalische Eigenschaften	15
2.1.2.	Verwendung und Gefahren für Mensch und Tier	15
2.1.3.	Stoffwechsel	16
2.1.4.	Wirkungen in vitro	17
2.1.5.	Wirkungen in vivo, Chromvergiftung	18

		Seite
2.2.	Cobalt	20
2.2.1.	Chemische und physikalische Eigenschaften	20
2.2.2.	Vorkommen, Verwendung und Gefahren für Mensch und Tier	20
2.2.3.	Stoffwechsel	21
2.2.4.	Wirkungen in vitro	22
2.2.5.	Wirkungen in vivo, Cobaltvergiftung	22
2.3.	Cer	24
2.3.1.	Chemische und physikalische Eigenschaften	24
2.3.2.	Vorkommen und Bedeutung für Mensch und Tier	24
2.3.3.	Stoffwechsel	25
2.3.4.	Wirkungen in vitro	26
2.3.5.	Wirkungen in vivo	26
2.3.6.	Cervergiftung	28
2.4.	Quecksilber	29
2.4.1.	Chemische und physikalische Eigenschaften	29
2.4.2.	Vorkommen, Verwendung und Gefahren für Mensch und Tier	29
2.4.3.	Stoffwechsel	31
2.4.4.	Wirkungen in vitro	31
2.4.5.	Wirkungen in vivo, Quecksilbervergiftung	33
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	34
1.	Problemstellung	34
2.	Versuchsplan	34
2.1.	Blind- und Kontrollversuche	34
2.2.	Testversuche mit Schwermetallen	35
3.	Versuchstiere und Versuchstierfütterung	36
4.	Methodik	38
4.1.	Chemikalien und Referenzgase	38
4.2.	Versuchsdurchführung	39

		Seite
4.3.	Kohlenwasserstoffbestimmung	40
4.3.1.	Analysengerät	40
4.3.2.	Kohlenwasserstoffidentifizierung	41
4.3.3.	Kohlenwasserstoffquantifizierung	41
4.3.3.1.	Eichkurven	41
4.3.3.2.	Berechnung der Kohlenwasserstoff-exspiration	45
5.	Ergebnisse	45
5.1.	Blindversuche	45
5.1.1.	Blindversuche ohne Versuchstiere	45
5.1.2.	Blindversuche mit Referenzgaszusatz	47
5.1.3.	Blindversuche mit Versuchstieren	48
5.2.	Kontrollversuche	49
5.2.1.	Kontrollversuche mit Natriumchlorid	50
5.2.2.	Kontrollversuche mit Natriumacetat	51
5.3.	Testversuche mit Chromchlorid	52
5.4.	Testversuche mit Cobaltacetat	58
5.5.	Testversuche mit Cerchlorid	63
5.6.	Testversuche mit Quecksilberacetat	68
6.	Versuchsauswertung	75
6.1.	Nachweisgrenzen	75
6.2.	Schwermetallabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration	77
6.3.	Dosisabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration	78
6.4.	Zeitabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration	79
IV.	DISKUSSION	80
V.	ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY	87
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	89

I. EINLEITUNG

Mensch und Tier werden heutzutage in vielen Bereichen des Lebens mit Schwermetallen konfrontiert, und nicht selten kommt es zu toxischen Schwermetallbelastungen des Organismus, sei es auf peroralem oder parenteralem (perkutan, per inhalationem u. a.) Wege.

Die Genese von solchen Schwermetall-bedingten Schädigungen wurde bis heute meist mit folgenden Wirkungsmechanismen zu erklären versucht:

* SH-Blockade mit Proteindenaturierung,
* SH-Blockade mit Enzymblockade,
* Membranlabilisierung bzw.
* Membranstabilisierung durch Bildung von Ionenhydraten.

Die von Schwermetallen gesetzten Schäden sind jedoch so vielseitig, daß die oben genannten Wirkungsmechanismen eine befriedigende Deutung der Genese der Schadwirkungen nicht zulassen.

So können Schwermetalle zu lokalen Reizungen führen, aber auch zu Stoffwechselstörungen, Störungen des Zentralnervensystems und Herz- und Kreislaufdepressionen. Die Palette der möglichen Schwermetallwirkungen erstreckt sich weiter über Schädigungen an Leber, Niere, Knochensystem, Blut etc. bis hin zu mutagenen, teratogenen und kanzerogenen Effekten.

Vor kurzem konnte jedoch ein neuer Schadwirkungs--Mechanismus bei einem Schwermetall aufgezeigt werden: Schmid (1979) und Schmid und Christoph (1980) stellten im Rahmen ihrer tierexperimentellen Arbeiten fest, daß zweiwertiges Eisen i n v i v o freie Radikale induziert, welche potente Zellmembran-Schadstoffe darstellen.

Es ist durchaus auch bei anderen Schwermetallen ein

radikalischer Schädigungsmechanismus denkbar.

Deshalb sollen im Rahmen dieser Arbeit Cr^{3+}-, Co^{2+}-, Ce^{3+}- und Hg^{+}-Ionen auf radikalbildende Eigenschaften in vivo untersucht werden.

Sollte sich die radikalbildende Wirkung eines Metalles in vivo nachweisen lassen, könnten bislang schwer erklärbare Wirkungen, z. B. mutagene und kanzerogene Eigenschaften, dem Verständnis näher gebracht werden.

Da Schwermetalle mit ihrem breiten Anwendungsspektrum (Baustoffe im weitesten Sinne, Futterzusatzstoffe, Arzneistoffe, Pestizide) auch als Umweltschadstoffe und Gewerbegifte eine zunehmende Bedeutung für Mensch und Tier erlangen, könnte diese Arbeit einen Beitrag zur besseren Risikoabschätzung bei Schwermetallexposition darstellen.

Anmerkung. Die Arbeit ist zur gleichen Zeit wie die Dissertation von W. Beuter (München 1981): "Untersuchung von Mangan(II)-, Nickel(II)-, Zinn(II)- und Blei(II)-Ionen auf radikalbildende Eigenschaften in vivo" am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München angefertigt worden. Dabei hat eine partielle Zusammenarbeit bei der Literaturbeschaffung und -auswertung sowie eine gegenseitige Diskussion der Ergebnisse stattgefunden, welche in gewissen Parallelitäten beider Dissertationen zum Ausdruck kommt.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Radikalchemie und Lipidperoxidation

1.1. Einführung in die Radikalchemie

1.1.1. Begriffsbestimmung

Ein freies Radikal ist definitionsgemäß ein Molekül (Q), das auf einem äußeren Orbital ein einzelnes, ungepaartes Elektron besitzt (Demopoulos 1973).

Radikale können positiv geladen ($Q\cdot^{+}$), negativ geladen ($Q\cdot^{-}$) oder neutrale Moleküle sein ($Q\cdot$) (Pryor 1976).

1.1.2. Entstehung von Radikalen in vivo

Radikale können auf verschiedenen Wegen induziert werden. Folgende Wege kommen in Betracht:

1) Die unimolekulare Homolyse von schwachen Bindungen durch thermische Energie; solch spontane Bindungsbrüche erfolgen oft bei Peroxiden (ROOR):

$$RO\text{-}OR \longrightarrow 2\ RO\cdot$$

Entsprechende Substanzen werden auch als "Initiatoren" radikalischer Kettenreaktionen bezeichnet (Pryor 1974, a; Pryor 1976).

2) Die Photolyse, wobei die für einen Bindungsbruch notwendige Energie durch das ultraviolette Licht geliefert wird,

$$\text{z. B.:}\quad Cl_2 \xrightarrow{h\nu} Cl_2^{*}$$

$$Cl_2^{*} \longrightarrow 2\ Cl\cdot$$

(Cl_2^{*}: angeregtes Cl_2-Molekül) (Pryor 1974, b).
In vivo kann das Licht natürlich nur an Stellen

Radikale induzieren und Schaden anrichten, die es erreichen kann. Geschädigt werden deshalb in erster Linie Mikroorganismen und die Haut höherer Lebewesen (Pryor 1976).

3) Die Radiolyse: Darunter versteht man die Spaltung von Molekülen durch die energiereichen Röntgen- bzw. Gammastrahlen sowie durch energiereiche Teilchen (energiereiche Elektronen, α-Teilchen, Neutronen, Protonen) (Pryor 1974, b).

Dabei entstehen durch Anregung oder Ionisation von Wassermolekülen im Gewebe unmittelbar oder durch Wechselwirkung mit anderen Wassermolekülen Ionen und als wichtigste freie Radikale H• und OH•:

Anregung: $H_2O \longrightarrow H_2O^*$

Ionisation: $H_2O \longrightarrow H_2O\bullet^+ + e^-$

Folgereaktionen:

$$H_2O^* \longrightarrow H\bullet + OH\bullet$$

$$H_2O + H_2O^* \longrightarrow H_2O\bullet^+ + H_2O\bullet^-$$

$$H_2O\bullet^- \longrightarrow H\bullet + OH^-$$

$$H_2O\bullet^+ \longrightarrow H^+ + OH\bullet$$

$$e^- + H_2O \longrightarrow H_2O\bullet^- \longrightarrow H\bullet + OH^-$$

(Lissner et al. 1975).

4) Ein-Elektron-Übertragung von Übergangsmetall-(Me-)-Ionen auf organische Verbindungen, vor allem auf Hydroperoxide, Peroxide, Perester sowie Wasserstoffperoxid. Die allgemeine Formulierung dieser Reaktion lautet:

$$Me^{I} + ROOR \longrightarrow Me^{II} + RO\bullet + RO^-$$

In Me^{II} befindet sich das Übergangsmetall in der um eine Stufe höheren Oxidationsstufe als in Me^{I}

(Pryor 1974, c).

Weitere radikalinduzierende Faktoren in vivo stellen bestimmte enzymatische Prozesse dar, außerdem Ozon, NO_2, Singlet-Sauerstoff (O_2^*) und auch chlorierte Kohlenwasserstoffe (Pryor 1976).

Radikal-Reaktionen können innerhalb vieler verschiedener Gruppen oder Familien von biochemischen Verbindungen auftreten. Die wichtigsten davon sind Proteine, Lipide, Kohlenwasserstoffe, Nukleinsäuren und Enzyme der Atmungskette (Demopoulos 1973).

1.2. Lipidperoxidation

1.2.1. Begriffsbestimmung

Unter Lipidperoxidation versteht man die Oxidation ungesättigter Fettsäuren unter Peroxidbildung. Bei der direkten Reaktion von Sauerstoff und Fettsäuren entstehen freie Radikal-Zwischenprodukte (z. B.: HOO·) und halbstabile Peroxide (LOOH) (Tappel 1973).

1.2.2. Chemie der Lipidperoxidation

Ungesättigte Fettsäuren (Fig. 1) sind besonders anfällig gegenüber Peroxidation, weil eine Doppelbindung die C-H-Bindung des benachbarten C-Atoms aus Mesomeriegründen schwächt (Sykes 1976). Die an solchen C-Atomen stehenden "α-Methylen"-Wasserstoffatome werden als teilweise aktiviert betrachtet, da zu ihrer Abspaltung relativ weniger Energie benötigt wird. Die Anwesenheit geringer Mengen von Initiatoren oder Prooxidantien führt zu vollständiger Aktivierung bzw. Abspaltung.

Molekularer Sauerstoff ist z. B. in der Lage, den

"α-Methylen"-Wasserstoff von Fettsäuren abzuspalten, wodurch ein Hydroperoxidradikal (HOO·) und ein freies Radikalzentrum an der Fettsäure entstehen (Fig. 2). Dieses Alkylradikal ist sehr reaktionsfreudig und ermöglicht die Anlagerung eines Hydroperoxidradikals. Auf diese Weise erhält die Fettsäure Hydroperoxidgruppen an ihren "α-Methylen"-Kohlenstoffen (Fig. 3) (Demopoulos 1973).

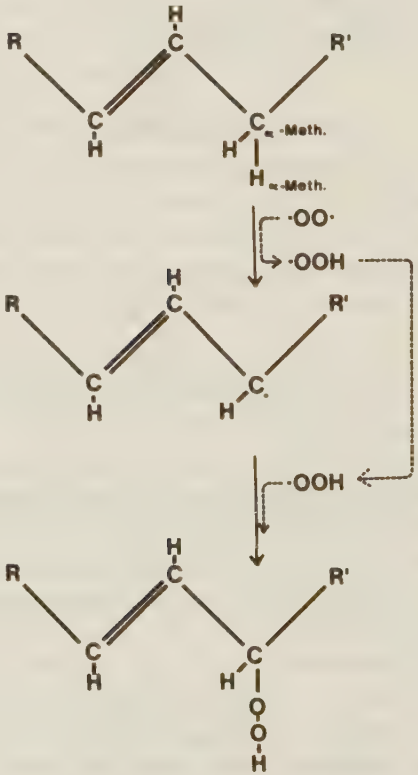


Fig. 1: Ungesättigte Fettsäure, Kettenausschnitt

Fig. 2: Fettsäure--Alkylradikal

Fig. 3: Fettsäure--Hydroperoxid

1.2.3. Zellpathologische Effekte der Lipidperoxidation

Es ist bekannt, daß Radikale und Peroxide einschließlich Singlet-Sauerstoff zelluläre und subzelluläre Membranen, Proteine und Nukleinsäuren etc. infolge hoher Reaktionsfähigkeit und starker Oxidationswirkung schädigen (Demopoulos 1973).

Besonders gut bekannt ist dies von den Membranlipiden der Zellen und Zellorganellen, deren Divinylmethan-artige Teilstruktur ($-CH=CH-CH_2-CH=CH-$) einen radikalischen Angriff an den α-Methylen-Kohlenstoffen, wie oben erwähnt, begünstigt. Die Folgen können eine Lipidperoxidation (LOOH) sein, gegebenenfalls mit Lipidvernetzung (LOOL') (Barber und Bernheim 1967).

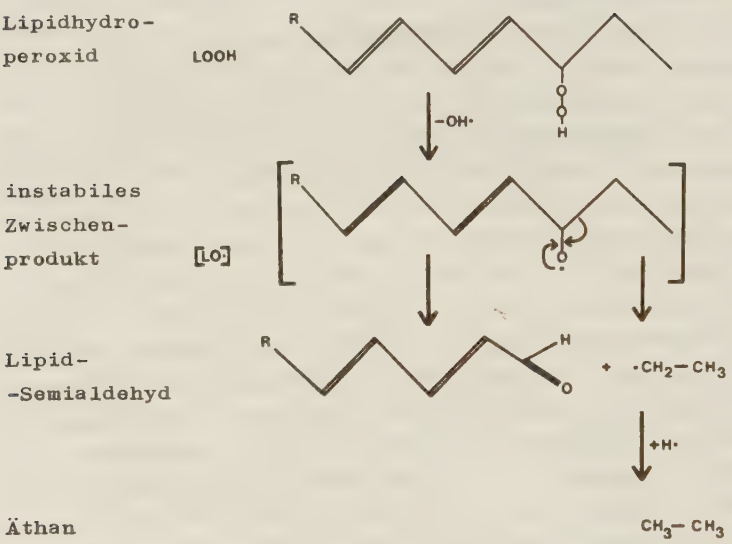
Hafeman und Hoekstra (1977) und Cohen (1978) erwähnten als Folgen die Bildung konjugierter Diene ($-CH=CH-CH=CH-$), vor allem aber werden Membranbrüche und -zertrümmerungen beschrieben (Slater 1972; Demopoulos 1973), wobei als Bruchstücke u. a. kurzkettige flüchtige Kohlenwasserstoffe entstehen, die in der Exspirationsluft erscheinen (Cohen et al. 1968; Riely et al. 1974; Cohen 1978; Frank et al. 1978) und zahlreiche Folgeprodukte (Schauenstein 1967; Frank et al. 1978), darunter Malondialdehyd ($OHC-CH_2-CHO$) (Niehaus und Samuelsson 1968; Pryor 1976).

Hafeman und Hoekstra (1977) zeichneten schematisch das Entstehen von Äthan und Semi-Aldehyden auf (Fig. 4).

Ein direktes Resultat der Lipidperoxidation stellen Permeabilitätsstörungen dar. Diese äußern sich als Schwellungen von Mitochondrien, strukturelle Veränderungen in Mikrosomen, Schäden an Proteinen und Enzymen, sowie Hämolyse der Erythrozyten (Haugaard 1968).

Die Schädigung der Zellmembran-Strukturen ist von

Fig. 4: Zerfall von Lipidhydroperoxiden



großer Bedeutung für das Zellaltern (Epstein und Gershon 1972). Das Alterspigment Lipofuszin stammt von subzellulären Organellen, die Peroxidationsreaktionen eingehen. Nach Ansicht von Epstein und Gershon (1972) können solche Peroxidationsreaktionen durch Oxidation von Lipidkomponenten destabilisierter Organellen mit molekularem Sauerstoff eingeleitet werden, oder sie werden durch Freie-Radikal-Reaktionen ausgeführt.

Weiter sind einige Enzyme membrangebunden und hängen in ihrer Aktivität von der Anwesenheit von Phospholipiden ab. Phospholipide sind zum Beispiel für die normale Funktion der mikrosomalen Enzyme Glukose-

-6-Phosphatase, Adenosintriphosphatase, UDP-Glukuronyltransferase und mischfunktionelle Oxidasen erforderlich (Recknagel et al. 1977). Die Lipidperoxidation kann zum Ausfall dieser Enzyme führen.

Eine zellpathologische Wirkung kann auch von den Lipidperoxiden selbst und ihren Abbauprodukten ausgehen. Dies ermöglicht auch Wirkungen in einer gewissen Distanz vom Ort des Entstehens der Lipidperoxide (Recknagel et al. 1977).

Es ist seit langem bekannt, daß Lipidperoxide toxisch sind (Aaes-Joergensen 1962; Schultz et al. 1962). Aber auch ihre Abbauprodukte können eine toxische Wirkung entfalten. Conroy et al. (1975) wiesen die zytostatische Wirkung von Trans-4-hydroxy-pentenal (HPE) nach.

1.3. Schutzmechanismen des Organismus gegen Radikale und Peroxide

Gegen die schädigenden Auswirkungen von Radikalen und Peroxiden stehen dem Organismus potentiell

* Inhibitorstoffe von Radikalen und Singlet-Sauerstoff und
* Enzyme zur Inaktivierung von Superoxid und Peroxiden

zur Verfügung.

1.3.1. Inhibitoren

Als Hemmstoff zur Inaktivierung von Radikalen ist vor allem Vitamin E bekannt (Urano und Matsuo 1976; Cohen 1978; Mc Cay et al. 1978). Es soll bei der Radikalinaktivierung zu einem Chinon umgesetzt werden (Draper und Csallany 1969; Tappel 1972; Gavino und Csallany 1977).

Slater (1978) hat allerdings gezeigt, daß Vitamin E die Lipidperoxidation gegebenenfalls auch stimulieren kann und spricht in diesem Zusammenhang von einem sog. "cross-over-Effekt" des Vitamins.

Hemmstoffe zur Inaktivierung von Singlet-Sauerstoff, welcher, wie bereits erwähnt, ebenfalls als radikalinduzierende Substanz in biologischen Systemen auftritt, sind neben Vitamin E (Foote et al. 1974; Brabham und Lee 1976) Histidin (Fridovich 1978) und β-Carotin (Foote 1976; Fridovich 1978).

1 Molekül Vitamin E soll 120 Moleküle Singlet-Sauerstoff inaktivieren können, bevor es selbst oxidiert wird (Fahrenholtz et al. 1974).

1.3.2. Enzyme

1976 berichtete Fridovich über die Umsetzung von Superoxid-Radikalionen ($OO\cdot^-$) mit Hilfe von Superoxiddismutasen:

$$2\ OO\cdot^- + 2\ H^+ \xrightarrow[\text{dismutase}]{\text{Superoxid-}} HOOH + O_2$$

Es sind Mn-, Fe- und Cu-Zn-haltige Superoxiddismutasen bekannt, im tierischen Organismus kommen aber nur die letzteren vor (Fridovich 1976 und 1978). Sie sind identisch mit einer Reihe bekannter kupferhaltiger Proteine, z. B. Erythro-, Zerebro- und Hepatokuprein (Fridovich 1976). Dabei inaktivieren Katalasen spezifisch das entstehende Wasserstoffperoxid:

$$2\ HOOH \xrightarrow{\text{Katalase}} 2\ H_2O + O_2$$

Die zur Reduktion des Peroxids benötigten Elektronen werden dabei dem Substrat selbst entzogen. Die Peroxidasen dagegen setzen relativ unspezifisch verschiedene Peroxide um (Flohé 1978) und entnehmen die

Elektronen einem oxidierbaren Co-Substrat. Für die Inaktivierung induzierter Peroxide im tierischen Organismus spielt vor allem die selenhaltige Glutathion--Peroxidase (Oh et al. 1974) eine Rolle, deren Co--Substrat reduziertes Glutathion (GSH) ist (Tappel 1972):

$$LOOH + 2\ GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSG$$

Die genannten Schutzmechanismen müssen jedoch nicht in jedem Fall wirksam sein, da meist eine Reihe von Wirkungsvoraussetzungen erfüllt sein müssen (z. B. die Anwesenheit eines "Radikalfängers" in unmittelbarer Nachbarschaft der Radikalentstehung) (Mc Cay et al. 1978; Slater 1978).

1.4. Messung der Lipidperoxidation

1.4.1. In-vitro-Messung

Zur Messung der Lipidperoxidation in vitro gibt es mehrere Methoden:

1) Die elektromagnetische Spin-Resonanz-(ESR-)Technik, die den Paramagnetismus unpaariger Elektronen mißt (Haugaard 1968; Saprin und Piette 1977).

2) Die Thiobarbitursäure-(TBA-)Probe: Hier wird Malondialdehyd ($OHC-CH_2-CHO$) bestimmt, welches mit TBA reagiert und ein rotes Pigment bildet (Dahle et al. 1962; Wills 1966; Dillard und Tappel 1971 und 1973; Plaa und Witschi 1976).

3) Die Prüfung von Gewebeextrakten auf die Anwesenheit von konjugierten Doppelbindungen mit Hilfe der Ultraviolett-Spektrophotometrie (Dahle et al. 1962; Plaa und Witschi 1976).

4) Die Bestimmung der Sauerstoffabsorption mit der Warburg-manometrischen Methode (Dillard und Tappel 1971 und 1973).

5) Die Messung des Peroxidgehalts (Dahle et al. 1962).

1.4.2. In-vivo-Messung

In vivo wird die Lipidperoxidation mit folgenden Methoden gemessen:

1) Durch die gaschromatographische Bestimmung von Kohlenwasserstoff-Gasen wie Äthan (Riely et al. 1974; Dillard et al. 1976; Dumelin und Tappel 1977; Köster et al. 1977; Schmid 1979; Beuter 1980; Schmid und Christoph 1980), Pentan (Dillard et al. 1976; Dumelin und Tappel 1977) bzw. Äthen (Beuter 1980; Schmid und Jungbauer 1980).

2) Eine weitere, weniger praktikable Methode zur Ermittlung einer Lipidperoxidation in vivo stellt die Fluoreszenz-Spektroskopie dar. Auch hierbei macht man sich das Entstehen von Malondialdehyd zu Nutzen. Folgendes Schema zeigt das Prinzip auf:

Malondialdehyd + Phosphatidyl Äthanolamin ⟶ fluoreszierendes Pigment

(Dillard und Tappel 1971 und 1973; Tappel 1973; Trombly et al. 1973; Malshet et al. 1974).

1.5. Übergangsmetalle als Radikalbildner und Lipidperoxidationsinduktoren

Wie bereits erwähnt, können auch die reduzierten Formen mancher Übergangsmetalle Radikale und Peroxide induzieren (Smith und Dunkley 1962; Pryor 1976), deren

Entstehung man sich im Falle des Eisens in Anlehnung an Smith und Dunkley (1962) z. B. folgendermaßen vorstellen kann:

1) $Fe^{2+} + O_2 \longrightarrow FeO_2^{2+}$

2) $FeO_2^{2+} + H^+ \longrightarrow HOO\cdot + Fe^{3+}$

3) $HOO\cdot + LH \longrightarrow L\cdot + HOOH$ /LH: Lipid

4) $L\cdot + O_2 \longrightarrow LOO\cdot$

5) $LOO\cdot + LH \longrightarrow LOOH + L\cdot$

Andere mögliche Reaktionen und Sekundärreaktionen:

6) $HOO\cdot + HOO\cdot \longrightarrow O_2^* + HOOH$
(Khan 1970)

7) $Fe^{2+} + O_2 \longrightarrow OO\cdot^- + Fe^{3+}$
(Mead 1976)

8) $OO\cdot^- + LOOH \longrightarrow LO\cdot + OH^- + O_2$
(Peters und Foote 1976)

9) $OO\cdot^- + HOOH \longrightarrow OH\cdot + OH^- + O_2$
(Haber und Weiss 1934; Willson 1978)

10) $Fe^{2+} + HOOH \longrightarrow OH\cdot + OH^- + Fe^{3+}$
(Willson 1978)

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß die reduzierte Form des Übergangmetalles Eisen folgende Radikale und Peroxide (inkl. Singlet-Sauerstoff) mit erheblicher molekular-pathologischer Bedeutung direkt oder indirekt bilden kann:

a) $HOO\cdot$ Hydroxyperoxidradikale

b) $L\cdot$ Lipidradikale

c) $LOO\cdot$ Lipidperoxidradikale

d) $OO\cdot^{-}$ Superoxidradikalionen

e) $OH\cdot$ Hydroxylradikale

f) O_2^* Singlet-Sauerstoff, hochangeregt

g) HOOH Wasserstoffperoxid

h) LOOH Lipidperoxid

Tatsächlich bestätigen zahlreiche Autoren die Radikal- und Lipidperoxidation-induzierende Wirkung der Fe^{2+}-Ionen in vitro (Ottolenghi 1959; Hunter et al. 1964; Lieberman und Mapson 1964; Barber 1965; Robinson 1965; Marks und Hecker 1967; Fong et al. 1973; Tyler 1975; Yamamoto et al. 1976; Lai und Piette 1977; Saprin und Piette 1977; Sharma 1977, a und b; u. a.).

In vivo konnten diese Wirkung bestätigen Tappel (1978), Schmid (1979) und Schmid und Christoph (1980), alle durch gaschromatographische Bestimmung von Kohlenwasserstoffen, letztere von Äthan, während Tappel Pentan nachwies.

Sifri und Hoekstra (1978) und Beuter (1980) gelang der gaschromatographische Nachweis von Äthan nach Applikation von zweiwertigem Blei. Letzterer beobachtete auch eine gleichzeitige Äthenexspiration.

Schließlich konnte Beuter (1980) auch eine Zinn-bedingte Äthanexspiration bei Mäusen feststellen und auf den möglichen Zusammenhang zwischen Metallapplikation einerseits und Lipidperoxidation mit Kohlenwasserstoffexspiration andererseits hinweisen.

Es liegt die Vermutung nahe, daß auch andere Metalle, die zu Elektronen-Transfers befähigt sind, als Radikalbildner fungieren und ähnliche Wirkungen auf biologische Systeme ausüben.

2. Untersuchte Schwermetalle

2.1. Chrom

2.1.1. Chemische und physikalische Eigenschaften

Chrom, Cr, gehört zusammen mit Molybdän und Wolfram der 6. Nebengruppe des Periodensystems an. Es hat die Ordnungszahl 24, eine Atommasse von 51,996 und eine Dichte von 6,92. Sein Schmelzpunkt liegt bei 1920 °C, sein Siedepunkt bei 2327 °C.

In seinen Verbindungen tritt es in den Oxidationszahlen II, III und VI auf. Es bildet oktaedrisch angeordnete Komplexe mit der Koordinationszahl 6.

Chromsalze in der drei- und der sechswertigen Form sind wasserlöslich und stabil (Venugopal und Luckey 1975).

Das Normalpotential für das Redoxpaar Cr^{3+}/CrO_4^{2-} beträgt +0,28 Volt (Hollemann und Wiberg 1976).

2.1.2. Verwendung und Gefahren für Mensch und Tier

Chrom findet in weiten Bereichen von Industrie und Technik Anwendung. So wird es in Legierungen (Ferrochrome) für die Herstellung von hochwertigen, korrosionsbeständigen Chromstählen angewandt. Die galvanische Verchromung von Blechen wird schon seit 1926 vorgenommen. Auch in Gerbereien werden Chromverbindungen kommerziell genutzt (Chromleder) (Becker 1979).

Weiter wird die Tatsache genutzt, daß Chromverbindungen intensiv gefärbt sind (griech.: chroma = Farbe): als Mineralfarben finden sie breite Anwendung in der Malerei (z. B.: Cr_2O_3 = Chromgrün; $PbCrO_4$ = Chromgelb, Postgelb) (Christen 1977).

Durch die rasch ansteigende Bedeutung in der Industrie und Technik gelangte Chrom zunehmend in die Biosphäre. Im Fleisch schwankt der Chromgehalt zwischen 0,03 und 0,27 ppm, in Gemüse zwischen 0 und 3,62 ppm, und Gewürze können bis zu 10 ppm Chrom enthalten (Becker 1979).

2.1.3. Stoffwechsel

Die Aufnahme von Chrom erfolgt v. a. mit der Nahrung und dem Trinkwasser. Die gastrointestinale Resorption von dreiwertigem Chrom beträgt weniger als 1 %. Sechswertiges Chrom, das im Duodenum fast zur Hälfte resorbiert werden würde, wird im sauren Magenmilieu in die schlecht resorbierbare dreiwertige Form übergeführt. Somit scheint dem Magensaft die Funktion zuzukommen, den Organismus vor exzessiver Chromresorption zu schützen (Venugopal und Luckey 1975; Becker 1979).

In Fetten gelöst kann Chrom auch direkt durch die Haut resorbiert werden (Moeschlin 1972).

Im alkalischen Milieu des Duodenums werden Chromsalze zu unlöslichen Komplexen umgebaut. Nur Chrom in Chelat-Verbindungen bleibt in Lösung. Intravenös verabreichte Chromsalze werden schnell in den Geweben verteilt. Sechswertiges Chrom durchdringt die Erythrozytenmembran und wird an das Globin des Hämoglobins gebunden. Dreiwertiges Chrom verbindet sich mit β-Globulinen des Plasmas und wird in den Geweben verteilt.

Wenig des resorbierten Chroms wird über die Nieren ausgeschieden. Das meiste einschließlich des nicht resorbierten Teils verläßt den Körper über den Darm (Venugopal und Luckey 1975).

2.1.4. Wirkungen in vitro

Paschen und Weser (1975) untersuchten die Wirkungen des Chroms auf organische Stoffe und Verbindungen. Sie erforschten den Zerfall des Tetraperoxochromat(V)--Komplexes (CrO_8^{3-}) in neutraler, wässriger Lösung in Gegenwart von Cytochrom c. Es entstanden verschiedene energiereiche Sauerstoffderivate wie Wasserstoffperoxid (HOOH), Singlet-Sauerstoff (O_2^*) und Hydroxylradikale (HO·). Cytochrom c wurde teilweise reduziert, was durch Superoxid-Dismutase (Erythrokuprein) nicht verhindert werden konnte. Dies nahmen Paschen und Weser (1975) als Hinweis darauf, daß die Reduktion von Cytochrom c durch direkte Elektronenübertragung von Cr^{5+} auf das Fe^{3+} des Cytochrom c zustande kommt. Sie weisen außerdem darauf hin, daß der entstehende Singlet-Sauerstoff und die Hydroxylradikale oxidierbare Substanzen wie Membranlipide, ungesättigte Substrate und Coenzyme einschließlich der Flavine irreversibel schädigen können.

Wirkungen des Chroms auf Zellen und zelluläre Strukturen untersuchten Baird et al. (1977) mit der TBA--Methode in in-vitro-Experimenten. Sie erzielten mit Kaliumperoxidchromat (K_3CrO_8) Lipidperoxidation in Rattenlebermikrosomen und machten die Reaktion

$$4\ CrO_8^{3-} + 2\ H_2O \longrightarrow 4\ CrO_4^{2-} + 7\ O_2^* + 4\ OH^-$$

und somit den entstehenden Singlet-Sauerstoff dafür verantwortlich. Außerdem konnten sie einen rapiden Verlust der NADPH-Cytochrom c-Reduktase-Aktivität feststellen.

Sie prüften auch die Verbindungen Kaliumdichromat ($K_2Cr_2O_7$) und Chromtrioxid (CrO_3) und erhielten hier sowohl Lipidperoxidation als auch Verlust der Reduktase-Aktivität, wenn auch in bescheidenerem

Ausmaß. Für Kaliumchromat (K_2CrO_4) hingegen konnten sie diese Wirkungen nur minimal bzw. überhaupt nicht feststellen.

Ohne es durch eigene Versuche zu beweisen, bezeichnet auch Kochi (1967) Chrom als radikalinduzierendes Schwermetall. Als Produkt der Reduktion eines organischen Substrats durch Chrom(II) postuliert er Chrom(III) und ein freies Radikal.

Venitt und Levy (1974) untersuchten die mutagene Wirkung von Chromaten auf Bakterien. Sie fanden, daß sechswertige Chromverbindungen auf manche Stämme von Escherichia coli mutagen wirkten. Aufgrund ihrer Beobachtungen vermuten sie, daß Chrom(VI) die Basen der DNA modifiziert, wodurch bei den nachfolgenden Zellteilungen Irrtümer bei der Basenpaarung unterlaufen.

Fargo und Fleming (1977) beobachteten die Wirkung von Chromat (1 und 10 ppm) auf nitrifizierende Bakterien und fanden eine schwere Wachstumshemmung bei Nitrosomas-, nicht jedoch Nitrobacter species.

2.1.5. Wirkungen in vivo, Chromvergiftung

Für den Menschen ist eine einmalige orale Aufnahme von 1 bis 2 g CrO_3 tödlich (Henschler 1977). Todesursachen sind Schock, schwere Nierenschädigungen (tubuläre Nephrose, Urämie, Anurie) sowie schwere Leberschäden.

Akute Chromatvergiftung führt zu Erbrechen, Diarrhoe und Hämolyse sowie Methämoglobinbildung. Bei Inhalation von Bichromatstaub kann es zu akuten Pneumonien kommen (Moeschlin 1972).

Bei chronischer Chrombelastung zeigen Ratten Wachstumsdepressionen und Schäden an Leber und Niere, wenn sie 50 ppm in der Ration erhalten (Mac Kenzie et al. 1958).

Die Inhalation von Chromat-Stäuben und Chromsäure--Nebeln verursacht signifikant vermehrtes Auftreten von Karzinomen im Respirationstrakt (Enterline 1974), weshalb Arbeiter in Chromat-verarbeitenden Betrieben besonders gefährdet sind.

Chronische Chromeinwirkung kann zu ulzerösen Gastroenteritiden führen (Moeschlin 1972).

1979 berichtete Bigaliev, daß das Hauptziel der toxischen Wirkung des Chroms die DNA ist: Cr^{3+} wird an die DNA gebunden, woraus Störungen in Replikation, Transkription und Translation resultieren.

2.2. Cobalt

2.2.1. Chemische und physikalische Eigenschaften

Cobalt, Co, hat die Ordnungszahl 27 und gehört zur 8. Nebengruppe des Periodensystems.

Es ist ein stahlgraues, hartes, glänzendes, ferromagnetisches Metall, das als α-Cobalt in hexagonal-dichtester und als β-Cobalt in kubisch-dichtester Packung kristallisiert.

Die Atommasse des Chroms beträgt 58,93, die Dichte 8,89, der Schmelzpunkt liegt bei 1492 °C und der Siedepunkt bei 3100 °C.

Cobalt kommt hauptsächlich in der zwei- und dreiwertigen Form vor. In den Verbindungen ist Co^{2+} beständiger, in den Komplexen Co^{3+}. Co^{3+} ist ein starkes Oxidationsmittel. In einigen seltenen Komplexen kann Cobalt auch -1, 0, +4 und +5 -wertig sein.

Das Normalpotential beträgt für das Redoxpaar Co^{2+}/Co^{3+} +1,68 Volt (Hollemann und Wiberg 1976).

2.2.2. Vorkommen, Verwendung und Gefahren für Mensch und Tier

Der Anteil des Cobalts am Aufbau der Erdrinde beträgt $1 \cdot 10^{-3}$ %. Es kommt in der Natur hauptsächlich als Begleiter des Nickels vor.

Die wichtigsten Erze sind Speiscobalt ($(Co, Ni, Fe)As_2$), Cobaltglanz (CoAsS) und Cobaltoxid (CoO).

Cobalt wird mit Eisen zu Legierungen von besonderer Festigkeit (Widia-Stahl für Schneidewerkzeuge, Stellit für Meißelspitzen) und für Magnetstähle verwendet, außerdem als "Smalte" zur Färbung von Glasflüssen und

keramischen Gegenständen. $^{60}_{27}Co$ dient als Strahlenquelle für γ-Strahlen (Hollemann und Wiberg 1976).

Cobalt ist ein essentielles Spurenelement für Wiederkäuer, deren Bedarf 0,06 mg/kg Futter-Trockensubstanz (TS) (Rind) und 0,1 mg/kg Futter-TS (Schaf) beträgt (Hapke 1975). Cobaltmangel ist bei Wiederkäuern in erster Linie ein Vitamin B_{12}-Mangel. Bei der Vitamin B_{12}-Synthese durch die Pansenmikroorganismen werden allerdings nur 10 - 30 % physiologisches Cobalamin und im übrigen unwirksame Analoge produziert (Menke und Huss 1975).

Cobaltvergiftungen treten erst bei Dosierungen über 50 mg/kg Futter-TS auf.

Vergiftungsquellen können sein: gewerbliche Exposition, Industriestaub, Medikamente, Futtermittel (höchste Gehalte in Rübenmelasse und Trockenschnitzeln).

2.2.3. Stoffwechsel

Die enterale Resorption von Cobalt erfolgt langsam und sehr unvollständig.

Cobalt zeigt keine Neigung zur Speicherung im Körper. Die geringen Mengen, die zurückgehalten werden, sind hauptsächlich in der Leber und in den Nebennieren zu finden (Venugopal und Luckey 1975).

Oral aufgenommenes Cobalt wird zum größten Teil enteral, in geringerem Umfang auch renal ausgeschieden. Durbin (1960) berichtet jedoch, daß intramuskulär injiziertes $^{60}CoCl_2$ von Ratten ausschließlich mit dem Harn ausgeschieden wird.

2.2.4. Wirkungen in vitro

Rae (1978) wies die hämolytische Wirkung von Cobalt in vitro nach.

Lieberman und Mapson (1964) konnten bei Inkubation von Linolensäure mit Cobalt keine Äthan- oder Äthenbildung feststellen.

Robinson (1965) fand mit der TBA-Methode keine Hinweise auf eine Lipidperoxidation nach Inkubation von Rattenhirnmikrosomen mit $CoCl_2$.

Sharma (1977, b) fand bei Inkubation von Rattenhirnhomogenaten ebenfalls keine Lipidperoxidation.

Barber (1965) beschreibt sogar eine Verhinderung der Lipidperoxidation in Gewebehomogenaten, wenn Co^{2+} in geringer Konzentration zugesetzt wird. Die kompetitive Hemmung von Eisen, welches die Lipidperoxidbildung katalysiert (Kieczka et al.1979), soll dabei die Ursache sein.

Auch Haugaard (1968) nennt Co^{2+} einen Inhibitor der Lipidperoxidation.

2.2.5. Wirkungen in vivo, Cobaltvergiftung

Toxische Dosen von Cobalt führen zu einer Polyzythämie bei allen Tierarten (Grant und Root 1952; Salei 1970). Bei Rindern sind allerdings nur Kälber betroffen, deren Pansen noch nicht entwickelt ist. Hyperplasie des Knochenmarks und Abgabe von Retikulozyten mit gestörter Atmungsfunktion wurde beobachtet.

Rae (1978) beschrieb außerdem eine hämolytische Wirkung in vivo.

Bei Hunden fanden Lazarus et al. (1953), daß Cobaltsalze eine Hyperglykämie produzieren durch reversible Schädigung der β-Zellen des Pankreas.

Inhalation von Cobaltsalzen oder Cobaltstaub ver-

ursacht Reizung, Ödem und Hämorrhagien durch erhöhte Kapillarpermeabilität in der Lunge (Venugopal und Luckey 1975).

In experimentellen Studien an Mäusen konnten Gilman und Ruckerbauer (1962) eine karzinogene Wirkung von CoO und CoS feststellen: intramuskuläre Verabreichung dieser Cobaltsalze führte zur Ausbildung von Sarkomen.

Sunderman (1972) indes sieht keinen Anhaltspunkt für ein erhöhtes Geschwulst-Risiko bei gelegentlicher Cobaltexposition.

2.3. Cer

2.3.1. Chemische und physikalische Eigenschaften

Das Element Cer, Ce, mit der Ordnungszahl 58 gehört zu den Seltenen Erden, besser Lanthanide genannt, da diese weder selten sind noch "Erden" sondern Metalle.

Es hat eine Dichte von 6,78, einen Schmelzpunkt von 804 °C, einen Siedepunkt von 2700 °C und gehört mit einer Atommasse von 140,13 und einem Atomradius von 1,81 Å zu den leichteren Lanthaniden (O'Brien et al. 1955; Christen 1977).

Cer kommt sowohl in dreiwertiger wie in vierwertiger Form vor (Moeller 1963).

Das Normalpotential für das Redoxpaar Ce^{3+}/Ce^{4+} beträgt +1,49 Volt (Hollemann und Wiberg 1976).

2.3.2. Vorkommen und Bedeutung für Mensch und Tier

Lanthanide kommen in der Erdkruste genauso häufig vor wie z. B. Quecksilber. Pflanzen nehmen Lanthanide im allgemeinen schwer auf (Kyker 1962). Die meisten Mikroorganismen und Fische diskriminieren Lanthanide, wodurch die Anreicherung in der Nahrungskette gehemmt wird (Arvela 1979).

In der Industrie werden Lanthanide als Zusatzmetalle für verschiedene Legierungen verwendet, wo sie schon in geringen Konzentrationen die Temperaturbeständigkeit, Härte, Rostanfälligkeit und Verarbeitbarkeit der verschiedenen Metalle und Legierungen günstig beeinflussen können.

Weiter werden sie eingesetzt in der Farb- und Glasindustrie, bei der Fertigung von Halbleitern und als Katalysatoren.

Die aktuellste Bedeutung kommt ihnen in Kernreak-

toren als Neutronen-Absorber zu (Arvela 1979).

In der Medizin wird ihre antikoagulatorische Wirkung auf das Blut ausgenutzt, welche vermutlich auf einer Anti-Prothrombinwirkung beruht (Reppel 1964).

Außerdem stellt die innere Anwendung von Lanthanid--Isotopen zur lokalen Bestrahlung eine potentielle medizinische Applikationsform dar (Hosain et al. 1968).

2.3.3. Stoffwechsel

Aus dem Gastrointestinaltrakt werden im allgemeinen weniger als 0,05 % einer oral verabreichten Cerdosis resorbiert. Minimale Resorption findet auch nach subkutaner oder intraperitonealer Injektion von Cer statt (Arvela 1979). Der häufigste Weg einer unbeabsichtigten Kontamination führt über die Lungen; die Wirkung inhalierter Lanthanide entspricht der Wirkung bei intravenöser Applikation (Thomas et al. 1972).

Leichte Lanthanide, zu denen Cer gehört, werden überwiegend in der Leber (50 %) und im Skelett (25 %) abgelagert, außerdem konnten sie in den Nieren (1 %), der Milz, dem Knorpel und der Nebennierenrinde nachgewiesen werden (Ewaldsson und Magnusson 1964; Magnussen 1963).

Lanthanide haben eine starke Tendenz, Chelat-Komplexe zu bilden. Diese Komplexe werden im Körper gleichmäßiger verteilt als die ionisierbaren Verbindungen (Durbin et al. 1956).

Injizierte gelöste Lanthanid-Ionen bilden in vivo Kolloide, die vom retikuloendothelialen System (RES) aufgenommen werden (Kyker 1962).

Die Ausscheidung der Lanthanide erfolgt über den Urin, die Galle und durch die Darmwand (Magnussen 1963).

Cer hat eine biologische Halbwertszeit von 15 Tagen (Haley 1965).

2.3.4. Wirkungen in vitro

1973 verursachte Arvela mit Hilfe von Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) Lipidperoxidation bei Leberzellen. Zugabe von Cer konnte diesen Effekt um 50 % abschwächen.

Power et al. stellten 1977 bei Untersuchungen an Säugetierzellkulturen fest, daß endogenes Glutathion (GSH) eine schützende Wirkung gegenüber peroxidierenden Einflüssen entfaltet. Cer senkt den endogenen GSH-Spiegel (Arvela 1979).

2.3.5. Wirkungen in vivo

Tuchweber et al. (1976) berichteten, daß Cer eine fettige Degeneration der Leberzellen verursacht.

Die Mitochondrien schwellen an, das rauhe, mit Ribosomen besetzte Endoplasmatische Retikulum (ER) nimmt an Umfang ab, während das glatte ER sich vergrößert. Kádas et al. (1974) vermuten als Ursache eine Komplexbildung zwischen leichten Lanthaniden und der Ribonukleinsäure.

Snyder et al. (1959) und später Arvela und Kärki (1971) fanden bei Ratten einen Anstieg der Konzentration freier Fettsäuren im Blut nach Behandlung mit Cer (2 mg/kg, i.v.).

Glenn et al. (1962) stellten in Ratten-Mitochondrien (48 h nach intravenöser Applikation von 3,5 mg Cer/kg) eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung fest.

Eine weitere biochemische Wirkung von intravenös verabreichtem Cer ist die Hypoglykämie (Arvela und Kärki 1971). Schurig und Oberdisse (1972) fanden eine

Hemmung der Leber-Glukoneogenese bei Ratten, die mit einem anderen leichten Lanthanid, Praseodym , behandelt wurden. Diese Hemmung ging einher mit einer drastischen Abnahme der Aktivität der Pyruvat-Karboxylase, Phosphoenolpyruvat-Karboxykinase und Glukose-6-Phosphatase (Schlüsselenzyme für die Glukoneogenese). Die Aktivitätsminderung von Glukose-6-Phosphatase zeigt an, daß eine Schädigung der mikrosomalen Membranen stattfand. Arvela und Kärki (1972) und Arvela (1974) konnten diese Wirkungen auch beim Cer feststellen.

Cytochrom P-450 ist der limitierende Faktor für die mikrosomale Elektronen-Transportkette. Seine Aktivität beträgt drei Tage nach Cer-Applikation (2 mg/kg, intravenös, Ratten) nur noch 53 % gegenüber unbehandelten Kontrolltieren (Arvela und Kärki 1971).

Cer aktiviert die UDP-Glukuronyltransferase. Hänninen und Puukka (1970) vermuten, daß die aktive Bindungsstelle dieses Enzyms in den Leber-Mikrosomen von einer Lipid-Barriere umgeben ist, welche Cer aufgrund seiner Reaktionsfähigkeit mit Phospholipiden durchbrechen kann.

Außerdem verursacht Cer eine Aktivitätssteigerung der löslichen Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, was möglicherweise ein Zeichen für eine Aktivierung des Pentose-Phosphat-Zyklus ist. Auf diese Weise soll ein angemessener NADPH- und Glutathion-Zellspiegel aufrecht erhalten werden (Plaa und Witschi 1976).

1974 berichtete Arvela, daß Vitamin E (100 mg/kg, i.p., 1x/d, 5d; d: Tag) in der Lage ist, die Rattenleber teilweise vor den toxischen Auswirkungen durch Cer zu schützen. Auch konnte Vitamin E die Aktivitätsminderung von NADPH-Cytochrom c-Reduktase und von Cytochrom P-450 fast vollständig verhindern.

Mit Hilfe der TBA-Methode gelang der Nachweis, daß Cer (2 mg/kg, i.v.) die Lipidperoxidation in der Rattenleber aktiviert (Arvela und Kärki 1974). Die Befunde wurden jedoch post mortem erhoben, weshalb eine unspezifische Autoxidation in den Leberzellen nicht ausgeschlossen werden kann (Mead 1976).

2.3.6. Cervergiftung

Die akuten Symptome einer Cervergiftung sind Ataxie, erschwerte Atmung, steifer Gang, niedriger Blutdruck und schließlich Tod durch Kreislaufversagen in Verbindung mit Atemlähmung.

Nach lokaler Injektion oder Inhalation konnten sowohl Haut- als auch Lungengranulome beobachtet werden (Haley 1965).

Beim Menschen besteht die häufigste Ursache für eine akzidentelle Kontamination in der Inhalation von Lanthanid-haltigen Staubpartikeln, was zur "Cer-Pneumokoniose" (Hoschek 1968) führen kann oder auch zu Strahlenschäden, wenn ^{144}Ce inhaliert wird (Muggenbauch et al. 1975; Silbauch et al. 1975).

2.4. Quecksilber

2.4.1. Chemische und physikalische Eigenschaften

Quecksilber, Hg, das einzige bei Zimmertemperatur flüssige Metall, gehört zur II. Nebengruppe des Periodensystems (Zinkgruppe). Die Metalle dieser Nebengruppe sind diamagnetisch und zeigen entfernten "Edelgas"--Charakter, da sie in jeder Schale 2 n^2-Elektronen besitzen.

Quecksilber hat die Ordnungszahl 80, eine Atommasse von 200,59 und eine Dichte von 13,534. Sein Schmelzpunkt liegt bei -38,84 °C, sein Siedepunkt bei +356,95 °C.

In seinen Verbindungen ist das Quecksilber stets zweiwertig; auch das gegen Reaktionspartner einwertige Hg in Kalomel (Hg_2Cl_2) ist zweiwertig: Cl-Hg-Hg-Cl.

Das Normalpotential beträgt für $Hg_2^{2+}/2Hg^{2+}$ +0,9075 Volt (Hollemann und Wiberg 1976).

2.4.2. Vorkommen, Verwendung und Gefahren für Mensch und Tier

Quecksilber kommt in der Natur hauptsächlich als Zinnober, HgS, daneben als Levingstonit, $Hg(Sb_4S_7)$ und gediegen vor. Am Aufbau der Erdrinde ist es mit $1 \cdot 10^{-5}$ % beteiligt.

Heute findet es Anwendung in der Chemie (Chlor-Alkali-Elektrolyse, Acetaldehyd- und Vinylchloridsynthese), bei der Herstellung von Meßinstrumenten, elektrischen Geräten, Batterien, Höhensonnen, als Saatgutbeizmittel, Holzschutzmittel, in der Metall- und Papierindustrie und als Antiseptikum (Merfen).

Zu den Quecksilbermengen, die bei diesen Anwendungen in die Umwelt entweichen, kommen die Verunreini-

gungen durch das Verbrennen fossiler Brennstoffe sowie die Gesteinserosion und der Quecksilberausstoß der Vulkane (Hollemann und Wiberg 1976).

Vergiftungen von Mensch und Tier können auf verschiedene Weise zustande kommen:

1) Akzidentelle Aufnahme von Quecksilber: Inhalation von Quecksilberdämpfen, Überdosierung bei medizinischer Anwendung.

Letztere Form ist selten. Quecksilberhaltige Medikamente sind heute obsolet und die akzidentelle Aufnahme ist in der Regel auf besondere Exposition am Arbeitsplatz zurückzuführen.

2) Aufnahme von Quecksilberverbindungen aus quecksilbergebeiztem Getreide oder nach Anreicherung in der terrestrischen Nahrungskette.

Eine Vergiftung durch Schweinefleisch von Schweinen, die mit quecksilbergebeiztem Getreide gefüttert worden waren (Methyl-Hg-dicyandiamid), ereignete sich in Alamogordo, New Mexico (Alpert et al. 1970).

3) Aufnahme von Quecksilber nach Biomethylierung und Anreicherung in der aquatischen Nahrungskette.

Die Vergiftungsepidemie von Minamata, Japan 1953 bis 1960, lenkte das Interesse auf die Anreicherung von Quecksilber in der aquatischen Nahrungskette (Nomura 1968). Jensen und Jernelöv (1969) zeigten, daß die Bakterienflora des Meeres eine Biomethylierung des Quecksilbers verursacht. CH_3-Hg-Cl und $Hg(CH_3)_2$ werden über Phytoplankton → Zooplankton → Fische und Meerestiere → Raubfische stark angereichert. Die größte Gefahr bestand für Menschen und Katzen, die ihren Eiweißbedarf vorwiegend durch Fische und Meeresfrüchte deckten, sowie für Nutztiere bei Verfütterung von Fischmehl.

2.4.3. Stoffwechsel

Größte Bedeutung für die Resorption von Hg hat der Darmkanal. Organische Quecksilberverbindungen werden dank ihrer Lipidlöslichkeit stärker resorbiert als anorganische Verbindungen. Hg_2Cl_2 ist wenig löslich und wird kaum resorbiert, ebenso metallisches Quecksilber. Organische Quecksilberverbindungen und insbesondere Quecksilberdämpfe werden über die Lunge, sowie in geringerem Umfang über die intakte Haut resorbiert (Clarkson 1972; Venugopal und Luckey 1975).

Das resorbierte Quecksilber wird vom Blut transportiert. Dabei wird der größte Teil des anorganischen Quecksilbers an Plasmaproteine gebunden, während organische Quecksilberverbindungen vor allem an Hämoglobin gebunden werden (Clarkson 1972).

Anorganisches Quecksilber reichert sich am meisten in den Nieren an, gefolgt von Leber, Milz und Gehirn. Organisches Quecksilber dagegen wird vor allem vom Nervengewebe gespeichert (Friberg und Vostal 1972).

Elementares und einwertiges Quecksilber wird zu Hg^{2+} oxidiert, das eine größere Wasserlöslichkeit zeigt (Clarkson 1972).

Wichtigste Ausscheidungswege für Hg sind die biliäre und die renale Ausscheidung in Form des Hg^{2+} (Venugopal und Luckey 1975). Methylquecksilber wird hauptsächlich als Cystein-Methyl-Hg-Komplex über die Galle ausgeschieden. Eine Reabsorption kann stattfinden (Cikrt 1973).

2.4.4. Wirkungen in vitro

Hg^{2+} hat eine große Affinität zu SH-Gruppen. Dies bedingt einerseits eine Bindung an Albumine, Globuline, Hämoglobin und Metallothionin, andererseits ei-

ne Bindung an Enzyme mit Hemmung derselben: Cholinesterasen, Glutathionreduktase, Adenosintriphosphat-(ATP-)asen, Kreatinkinase und Adenylzyklase (Keck 1979).

Aberg et al. (1969) wiesen eine Hemmung der δ-Aminolävulinsäuredehydratase und der Cholinesterase nach.

Tyler (1969) und Fonyo et al. (1974) fanden bei Studien an isolierten Mitochondrien, daß Quecksilber in Form von Mersalyl oder p-Chloromerkuriphenylsulfonat (CMS) bereits bei Konzentrationen unter 10 nmol/mg Protein eine Hemmung des Phosphattransportes durch Bindung an die SH-Gruppen des Phosphattransportenzyms bewirkt.

Nach Briereley et al. (1971 und 1973) erhöht CMS die Kaliumpermeabilität der Mitochondrien und aktiviert die ATP-abhängige Kaliumakkumulation.

Utley et al. (1967) maßen mit der TBA-Methode eine gesteigerte Lipidperoxidation von Mäuse- und Rattenlebermikrosomen nach Behandlung mit $HgCl_2$.

Robinson (1965) maß mit der TBA-Methode eine erhöhte Lipidperoxidation von Rattenhirnmikrosomen nach Behandlung mit $HgCl_2$ und Askorbat. $HgCl_2$ allein zeigte diese Wirkung nicht.

Chvapil (1972) stellte fest, daß Hg^{2+} die Freisetzung von β-Glukuronidase aus einer Suspension von isolierten Rattenleberlysosomen erhöht. Daraus kann evtl. auf eine Labilisierung der Lysosomen durch Lipidperoxidation geschlossen werden.

Wassermann und Koepp (1977) fanden in den Zellen der proximalen Nierentubuli des Knochenfisches Fundulus heteroclitus nach Einwirkung von 0,25 ppm $HgCl_2$ eine Erweiterung des glatten ER und der apikalen Vesikel. 0,75 ppm führten zur Schwellung der basalen Mitochondrien und 1,50 ppm zu einer allgemeinen Schwellung der Nierenzellen.

Inoue (1978) fand bei Behandlung von Erythrozyten in vitro mit $HgCl_2$ Hämolyse und gesteigerte Kaliumpermeabilität, was durch den Membranstabilisator Cepharanthin verhindert werden konnte.

2.4.5. Wirkungen in vivo, Quecksilbervergiftung

Nach pränataler Einwirkung von organischen Quecksilberverbindungen zeigen Neugeborene motorische Störungen, insbesondere Ataxie und Schwäche (Harada 1968). Diese Schäden sind irreversibel.

Bei der postnatalen Vergiftung mit Methyl-Hg-chlorid zeigen sich neben lokalen Reizungen hauptsächlich neurologische Symptome: Sinnesstörungen, Ataxie, konzentrische Einengung des Gesichtsfeldes ("tunnel view") und Gehörverlust (Tokuomi 1968; Tsubaki 1971).

Die chronische Aufnahme von anorganischem Quecksilber führt anfangs zu Anorexie, Gewichtsverlust und leichten Störungen des Zentralnervensystems (ZNS). Später zeigen sich Tremor mercurialis, psychische Störungen und Veränderungen der Persönlichkeit (Wood und Weiss 1971).

Die akzidentelle Inhalation hoher Konzentrationen von Quechsilberdämpfen führt zu bronchialer Irritation, erosiver Bronchitis und diffuser interstitieller Pneumonie (Tennant et al. 1961).

In hohen Konzentrationen verursacht Hg^{2+} Agglutination und Hämolyse von Erythrozyten (Venugopal und Luckey 1975).

Válek (1965) berichtet über nekrotische Veränderungen am Gastrointestinaltrakt, Nierenversagen mit Oligurie oder Anurie und Kreislaufkollaps nach Aufnahme von anorganischen Quecksilbersalzen.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Problemstellung

Mit der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob die Schwermetalle Chrom, Cobalt, Cer und Quecksilber in ihrer reduzierten Form (Cr^{3+}, Co^{2+}, Ce^{3+}, Hg^{+}) in vivo Radikalbildner sind.

Zu diesem Zweck ist die Exspirationsluft entsprechend vorbehandelter Versuchstiere auf flüchtige Kohlenwasserstoffe untersucht worden, die als Indikatoren für radikalgeschädigte Membranlipide gelten (Riely et al. 1974).

2. Versuchsplan

Über die Versuchsanlage bzw. die Anzahl der Exspirationsluft-Analysen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen informieren die Tabellen 1 und 2.

2.1. Blind- und Kontrollversuche

Tab. 1: Analysenhäufigkeit der Exspirationsluft im Rahmen der Blind- und Kontrollversuche in Abhängigkeit vom Meßzeitpunkt (t)

Versuchsart	t (min)		
	60	120	180
Blindversuche ohne Versuchstiere	6	6	6
Blindversuche mit Versuchstieren	6	6	6
Kontrollversuche mit physiologischer Natriumchloridlösung	6	6	6

Fortsetzung Tab. 1

Versuchsart	t (min)		
	60	120	180
Kontrollversuche mit physiologischer Natriumacetatlösung	6	6	6

2.2. Testversuche mit Schwermetallen

Tab. 2: Analysenhäufigkeit der Exspirationsluft in Abhängigkeit von Versuchssubstanz, Dosis und Meßzeitpunkt

Metallchlorid	Metall-Dosis (mg/kg)	t (min)		
		60	120	180
Chrom(III)-chlorid $CrCl_3 \cdot 6H_2O$	225	4	4	4
	413	4	4	4
	506	4	4	4
	716	4	4	4
	759	4	4	4
Cer(III)-chlorid $CeCl_3 \cdot 7H_2O$	444	4	4	4
	1 000	4	4	4
	1 500	4	4	4

Fortsetzung Tab. 2

Metall-acetat	Metall--Dosis (mg/kg)	t (min)		
		60	120	180
Queck-silber(I)-acetat $(CH_3COO)_2Hg_2$	4,9	4	4	4
	7,3	4	4	4
	11,0	4	4	4
	16,5	4	4	4
	24,5	4	4	4
Cobalt(II)-acetat $(CH_3COO)_2Co \cdot 4H_2O$	5,8	4	4	4
	19,7	4	4	4
	29,6	4	4	4

3. Versuchstiere und Versuchstierfütterung

Als Versuchstiere dienten konventionell gehaltene männliche und weibliche Mäuse aus der Zucht des Instituts. Ihre durchschnittliche Körpermasse betrug 36 g.

Ihre Ernährung erfolgte seit Beginn der Fremdfutteraufnahme (Alter ca. 3 Wochen, Körpermasse 10 - 14 g) mit Haltungsdiät für Mäuse und Ratten Nr. 1320 der Fa. ALTROMIN GmbH, Lage/Lippe.

Alle Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum. Sie wurden ohne Futterentzug in den Versuch genommen. Der Hersteller macht über das Futter folgende Angaben:

Umsetzbare Energie	13000 kJ/kg

Rohnährstoffe (Masse% in der Diät)

Rohprotein	19,0
Rohfett	4,0
Rohfaser	6,0
Asche	7,0
Wasser	13,5
N-freie Extraktstoffe	50,5

Mineralstoffe (Masse% in der Diät)

Natrium	0,2
Magnesium	0,2
Calcium	0,9
Phosphor	0,7

Vitaminzusätze (mg/kg Diät, wenn nicht anders angegeben)

Vitamin A	15000	I. E.
Vitamin D_3	600	I. E.
Vitamin E	75	
Vitamin K_3	3	
Vitamin B_1	18	
Vitamin B_2	12	
Vitamin B_6	9	
Vitamin B_{12}	24	mcg
Nikotinsäure	36	
Pantothensäure	21	
Folsäure	2	
Biotin	60	mcg
Cholin	600	
Vitamin C	36	

Aminosäuren (Masse% in der Diät)

Lysin	0,9
Methionin und Cystin	0,6
Phenylalanin und Tyrosin	1,4
Arginin	1,1
Histidin	0,4
Tryptophan	0,2
Threonin	0,6
Isoleucin	0,9
Leucin	1,3
Valin	0,9

Spurenelemente (mg/kg Diät)

Mangan	75,0
Eisen	135,0
Kupfer	13,0
Zink	70,0
Jod	0,9
Fluor	9,0

4. Methodik

4.1. Chemikalien und Referenzgase

Folgende Chemikalien bzw. Referenzgase wurden verwendet:

a) Chrom(III)-chlorid ($CrCl_3 \cdot 6H_2O$) reinst
MERCK, Darmstadt

b) Cobalt(II)-acetat ($(CH_3COO)_2Co \cdot 4H_2O$) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

c) Cer(III)-chlorid ($CeCl_3 \cdot 7H_2O$) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

d) Quecksilber(I)-acetat ($(CH_3COO)_2Hg_2$) reinst
MERCK, Darmstadt

e) Natriumchlorid (NaCl) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

f) Natriumacetat ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

g) Methan (CH_4), Äthan (C_2H_6), Propan (C_3H_8) und n-Butan (C_4H_{10}), je 100 µl/l, Prüfgas
LINDE AG., Unterschleißheim

h) Äthen (C_2H_4), Propen (C_3H_6), cis-2-Buten und trans-2-Buten (C_4H_8), je 100 µl/l, Prüfgas
LINDE AG., Unterschleißheim

i) Dräger-Sorb 650, CH 508
DRÄGER, Lübeck

4.2. Versuchsdurchführung

Alle Versuchssubstanzen kamen in frischer, mit aqua dest. zubereiteter Lösung zur Anwendung. Quecksilberacetat- und Cobaltacetat-Lösungen wurden mit Natriumacetat auf Isotonie eingestellt. Ihr Applikationsvolumen betrug 25 ml/kg KM (KM = Körpermasse).

Bedingt durch die geringe Toxizität von Chromchlorid und Cerchlorid konnten hier Lösungen zur Anwendung kommen, die isotonisch waren. Es wurde darauf geachtet, daß das Applikationsvolumen 125 ml/kg KM nicht überschritt.

Jeweils vier Mäuse, zwei männliche und zwei weibliche, bildeten eine Versuchstiergruppe. Die Applikation der Versuchslösungen erfolgte intraperitoneal. Unmittelbar darauf wurde die Versuchstiergruppe in

einen Exsikkator aus Glas mit einem Leervolumen von 850 ml verbracht, der mit 100 g Atemkalk zur CO_2-Absorption beschickt war. Das Nettovolumen des Exsikkators betrug, abhängig von der Gesamtmasse der Versuchstiere, etwa 606 ml. Nach 5 Minuten langer Spülung von Exsikkator inklusive Versuchstieren mit synthetischer Luft (20% O_2, 80% N_2, LINDE AG., Unterschleißheim) wurde der Exsikkator an die Sauerstoffversorgung angeschlossen und die Anreicherung der exspirierten Kohlenwasserstoffe begonnen (Zeitpunkt 0). Die Sauerstoffversorgung (hochgereinigter Sauerstoff 99,99995 Vol.%, LINDE AG., Unterschleißheim) erfolgte über ein Sperrventil kontinuierlich und drucklos, so daß die Gasdichte im Exsikkator konstant blieb.

Die Gasentnahme erfolgte mit einer HAMILTON-Gasspritze, deren Kanüle durch ein Silikongummiseptum hindurch in den Exsikkator eingeführt wurde.

Unmittelbar nach Entnahme der Gasprobe (10 ml) erfolgte ihre Einspritzung in das automatische Gasprobeneinlaßventil des Gaschromatographen, wonach 5 ml der Probe auf flüchtige Kohlenwasserstoffe analysiert wurden.

4.3. Kohlenwasserstoffbestimmung

4.3.1. Analysengerät

Die Analyse der Exspirationsluft auf Kohlenwasserstoffe erfolgte gaschromatographisch mit einem HEWLETT PACKARD-Gerät der Serie 5830 A. Als Säulenfüllung (6 ft Stahlsäule) diente Porapak Q 80 - 100 mesh, als Trägergas nachgereinigter Stickstoff mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 40 ml/min.

Als Kohlenwasserstoffdetektor diente ein Flammenionisationsdetektor, welcher mit H_2 und synthetischer Luft betrieben wurde.

Die Arbeitstemperaturen von Einspritzblock, Säule und Detektor betrugen 150, 100 bzw. 200 °C.

4.3.2. Kohlenwasserstoffidentifizierung

Zur Identifizierung der exhalierten Kohlenwasserstoffe wurden die Chromatogramme von Versuchen mit unbehandelten Kontrolltieren mit solchen von behandelten Testtieren verglichen. Die Identifizierung dosisabhängiger (!) Mehrpeaks erfolgte mit Referenzgasen anhand von Retentionszeit und "Spiking" (Vergrößerung der Peakfläche durch zugemischte Referenzgase).

4.3.3. Kohlenwasserstoffquantifizierung

4.3.3.1. Eichkurven

Die quantitative Kohlenwasserstoffbestimmung erfolgte mit Hilfe von Eichkurven, welche unter Verwendung von Referenzgasen erstellt wurden. In allen Fällen konnte ein linearer Zusammenhang zwischen Kohlenwasserstoffkonzentration und Papiermasse des ausgeschnittenen Peaks dargestellt werden. Zur Beschreibung dieses Zusammenhanges wurden Regressionsgleichungen der allgemeinen Form

$$PM = a + bC$$

berechnet.

Die Symbole bedeuten:

PM: Papiermasse eines Kohlenwasserstoffpeaks (E)
C: Kohlenwasserstoffkonzentration (µl/l)
a, b: Konstanten (substanzspezifisch)
E: Masseneinheiten (10^{-2} mg)

Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die so ermittelten substanzspezifischen Konstanten, die Korrelationskoeffizienten (r) für den Zusammenhang zwischen Peakpapiermasse und Gaskonzentration sowie die statistische Bewertung der Korrelationskoeffizienten.

Tab. 3: Eichkurvenparameter für Äthan und Äthen sowie deren statistische Beurteilung

Substanz	a	b	r	p<
Äthan	-26,1	28117	0,9946	0,001
Äthen	-26,9	22330	0,9961	0,001

Die Eichkurven sind in den Abbildungen 1 und 2 graphisch dargestellt.

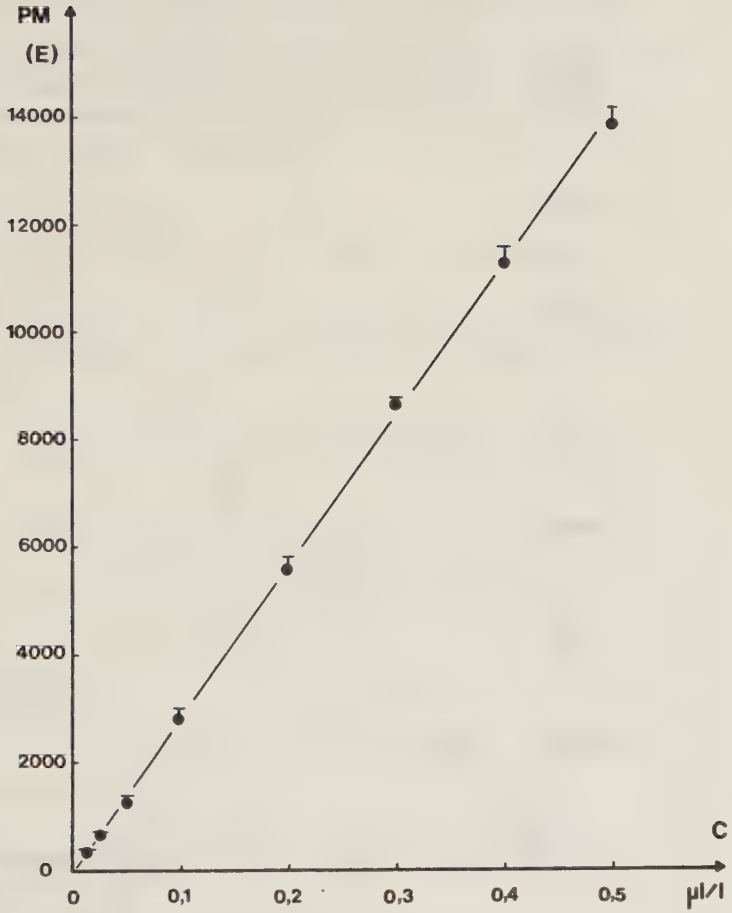


Abb. 1: Eichkurve für Äthan: PM = - 26,1 + 28117 C

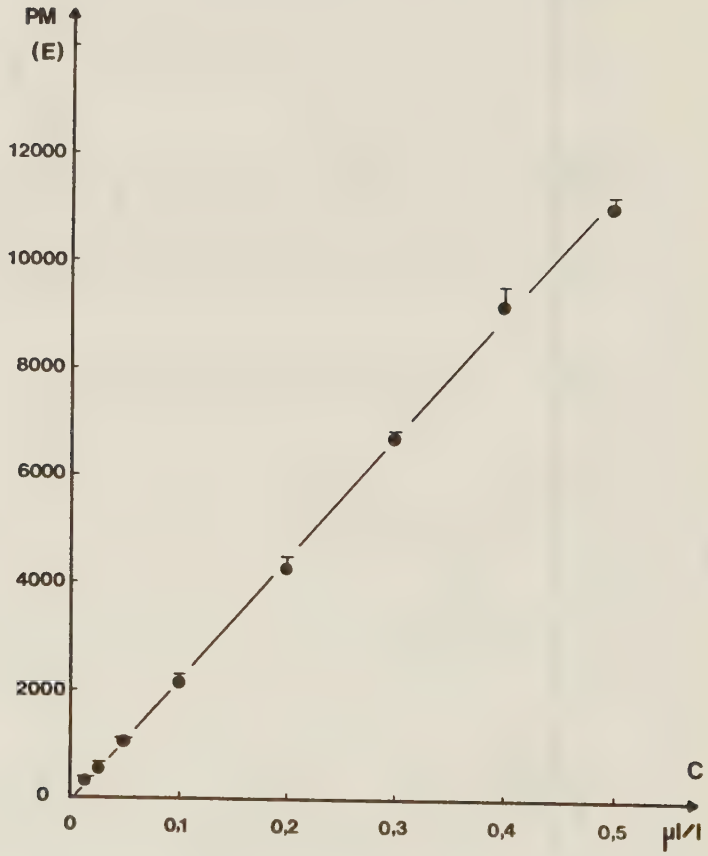


Abb. 2: Eichkurve für Äthen: PM = - 26,9 + 22330 C

4.3.3.2. Berechnung der Kohlenwasserstoffexspiration

Die im Exsikkator während des Versuches angereicherte Kohlenwasserstoffmenge (M) pro kg Versuchstier wurde aus der Papiermasse des ausgeschnittenen Peaks nach folgender Formel berechnet:

$$M = \frac{44{,}64 \cdot (PM - a) \cdot V}{b \cdot TG} \quad (nmol/kg \cdot t)$$

Dabei haben die verwendeten Symbole folgende Bedeutung:

M: Kohlenwasserstoffmenge (nmol/kg·t)
PM: Papiermasse eines Kohlenwasserstoffpeaks (E)
a, b: Eichkurvenparameter aus Tabelle 3
V: Nettovolumen des Exsikkators (ml)
TG: Gesamtmasse der Versuchstiergruppe (g)
t: Versuchsdauer (min)

5. Ergebnisse

Auf die beschriebene Weise sind folgende Ergebnisse ermittelt worden:

5.1. Blindversuche

5.1.1. Blindversuche ohne Versuchstiere

Bei den Blindversuchen, die ohne Versuchstiere durchgeführt wurden, konnten im Exsikkatorgas keine Kohlenwasserstoffe festgestellt werden.

Ein für solche Versuche typisches Chromatogramm zeigt Abbildung 3.

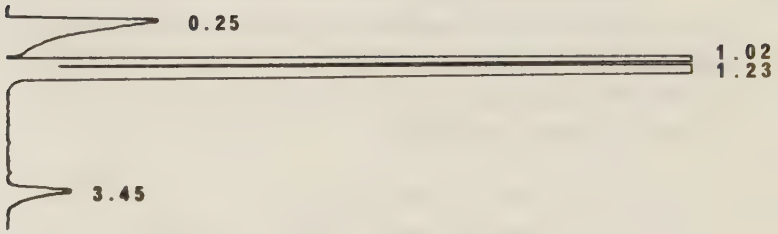


Abb. 3: Gaschromatogramm aus einem Blindversuch ohne Versuchstiere (t = 180 min)

Tabelle 4 gibt Aufschluß über die in Abbildung 3 aufgezeichneten Peaks.

Tab. 4: Peakerläuterung zu Abbildung 3

Retentionszeit (min)	Peak
0,25	unspezifischer Startpeak (nicht identifiziert)
1,02	Sauerstoffpeak
1,23	Kohlendioxidpeak
3,45	unspezifischer Peak (nicht identifiziert)

Retentionszeit: Zeit zwischen Chromatogrammstart und Peakmaximum

"Unspezifischer" Peak: Schwermetallunabhängiger Peak

5.1.2. Blindversuche mit Referenzgaszusatz

Abbildung 4 zeigt das Chromatogramm eines Blindversuches ohne Versuchstiere nach Zusatz von Äthan und Äthen zum Exsikkatorgas. Sie kann zur Ermittlung der Kohlenwasserstoffpeaks mit Abbildung 3 verglichen werden.

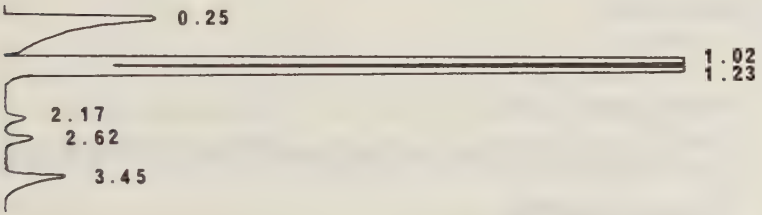


Abb. 4: Gaschromatogramm von synthetischer Luft (s. oben) mit Äthan- und Äthenzusatz (je 0,025 µl/l)

Die Zuordnung der Kohlenwasserstoffpeaks geht aus Tabelle 5 hervor.

Tab. 5: Retentionszeit von Äthan und Äthen in synthetischer Luft

Retentionszeit (min)	Peak
2,62	Äthan
2,17	Äthen

5.1.3. Blindversuche mit Versuchstieren

Zur Ermittlung des Versuchstiereffektes auf die Zusammensetzung des Exsikkatorgases sind Blindversuche mit unbehandelten Versuchstieren durchgeführt worden. Ein typisches Chromatogramm eines derartigen Versuches ist in Abbildung 5 dargestellt. Es ist zur Beurteilung des Versuchstiereffektes mit Abbildung 3 bzw. 4 vergleichbar.

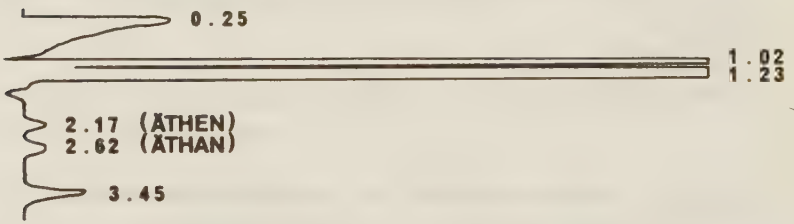


Abb. 5: Gaschromatogramm aus einem Blindversuch mit unbehandelten Versuchstieren (t = 180 min)

Abbildung 5 enthält 2 Kohlenwasserstoffpeaks, welche als Äthan- (Retentionszeit 2,62 min) und Äthenpeak (Retentionszeit 2,17 min) identifiziert werden konnten. Dies läßt auf eine schwermetallunabhängige Spontanexhalation von Äthan und Äthen schließen.

Die quantitative Auswertung der Blindversuche mit Versuchstieren ist in den Tabellen 6 und 7 zusammengefaßt.

Tab. 6: Äthanexspiration von unbehandelten Versuchstieren (nmol/kg·t)

t (min)	60	120	180
n	6	6	6
$\bar{x}$	4,21	4,78	5,03
$s_{\bar{x}}$	0,23	0,40	0,40

n: Stichprobenumfang $\bar{x}$: Arithmetischer Mittelwert
$s_{\bar{x}}$: Standardabweichung von $\bar{x}$

Tab. 7: Äthenexspiration von unbehandelten Versuchstieren (nmol/kg·t)

t (min)	60	120	180
n	6	6	6
$\bar{x}$	4,30	5,38	5,56
$s_{\bar{x}}$	0,16	0,26	0,35

5.2. Kontrollversuche

Zur Abschätzung des Anioneneinflusses (Cl^- bzw. CH_3COO^-) auf die Kohlenwasserstoffexspiration wurden Kontrollversuche mit gewebeisotonen Lösungen der entsprechenden Natriumsalze durchgeführt. Die dabei gewonnenen Ergebnisse wurden zur Beurteilung der Schwermetallwirkungen herangezogen.

5.2.1. Kontrollversuche mit Natriumchlorid

Bei den Kontrollversuchen mit Natriumchlorid konnte eine Äthan- und Äthenproduktion festgestellt werden, die in derselben Größenordnung wie bei den Blindversuchen mit unbehandelten Versuchstieren lag. Dies geht aus den Tabellen 8 und 9 hervor.

Tab. 8: Äthanexspiration von Kontrolltieren (nmol/kg·t) nach Verabreichung von Natriumchlorid (125 ml/kg i. p. in 0,9 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
n	6	6	6
$\bar{x}$	3,36	4,11	4,63
$s_{\bar{x}}$	0,30	0,32	0,17

i. p.: intraperitoneal

Tab. 9: Äthenexspiration von Kontrolltieren (nmol/kg·t) nach Verabreichung von Natriumchlorid (125 ml/kg i. p. in 0,9 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
n	6	6	6
$\bar{x}$	4,55	5,02	6,09
$s_{\bar{x}}$	0,26	0,47	0,25

5.2.2. Kontrollversuche mit Natriumacetat

Die Kontrollversuche mit Natriumacetat führten zum gleichen Ergebnis wie die Versuche mit Natriumchlorid. Sie sind in den Tabellen 10 und 11 zusammengefaßt.

Tab. 10: Äthanexspiration von Kontrolltieren (nmol/kg.t) nach Verabreichung von Natriumacetat (25 ml/kg i. p. in 3,37 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
n	6	6	6
$\bar{x}$	3,43	4,04	4,56
$s_{\bar{x}}$	0,27	0,36	0,28

Tab. 11: Äthenexspiration von Kontrolltieren (nmol/kg.t) nach Verabreichung von Natriumacetat (25 ml/kg i. p. in 3,37 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
n	6	6	6
$\bar{x}$	4,14	4,51	5,24
$s_{\bar{x}}$	0,51	0,36	0,45

5.3. Testversuche mit Chromchlorid

Ein typisches Chromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Chrom(III)-chlorid ist in Abbildung 6 dargestellt. Es enthält 2 Kohlenwasserstoffpeaks, welche als Äthan- (Retentionszeit 2,62 min) und Äthenpeak (Retentionszeit 2,17 min) identifiziert werden konnten.

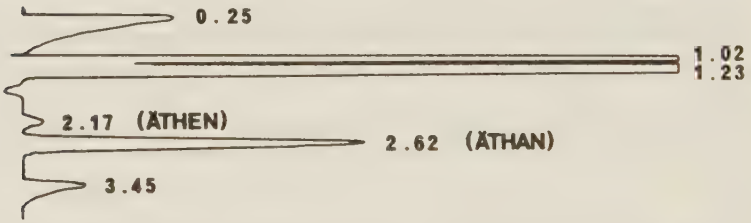


Abb. 6: Gaschromatogramm nach Versuchstierbelastung mit Chrom(III)-chlorid (759 mg Cr^{3+}/kg KM; t = 180 min)

Weitere Kohlenwasserstoffpeaks mit Retentionszeiten bis 120 Minuten wurden nicht registriert.

Über die Abhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration von der Cr^{3+}-Dosis und der Versuchsdauer informieren die Tabellen 12 und 13 sowie die Abbildungen 7, 8, 9 und 10.

Tab. 12: Äthanexspiration nach Chrombelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Cr(III) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
225	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,08	3,81	4,27
	$s_{\bar{x}}$	0,32	0,28	0,31
413	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,20	8,13	9,46
	$s_{\bar{x}}$	0,57	2,01	2,03
506	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,32	10,93	16,15
	$s_{\bar{x}}$	0,55	2,55	2,66
716	n	4	4	4
	$\bar{x}$	6,83	21,16	27,92
	$s_{\bar{x}}$	1,01	4,20	2,38
759	n	4	4	4
	$\bar{x}$	8,40	25,51	34,78
	$s_{\bar{x}}$	1,55	3,08	3,58

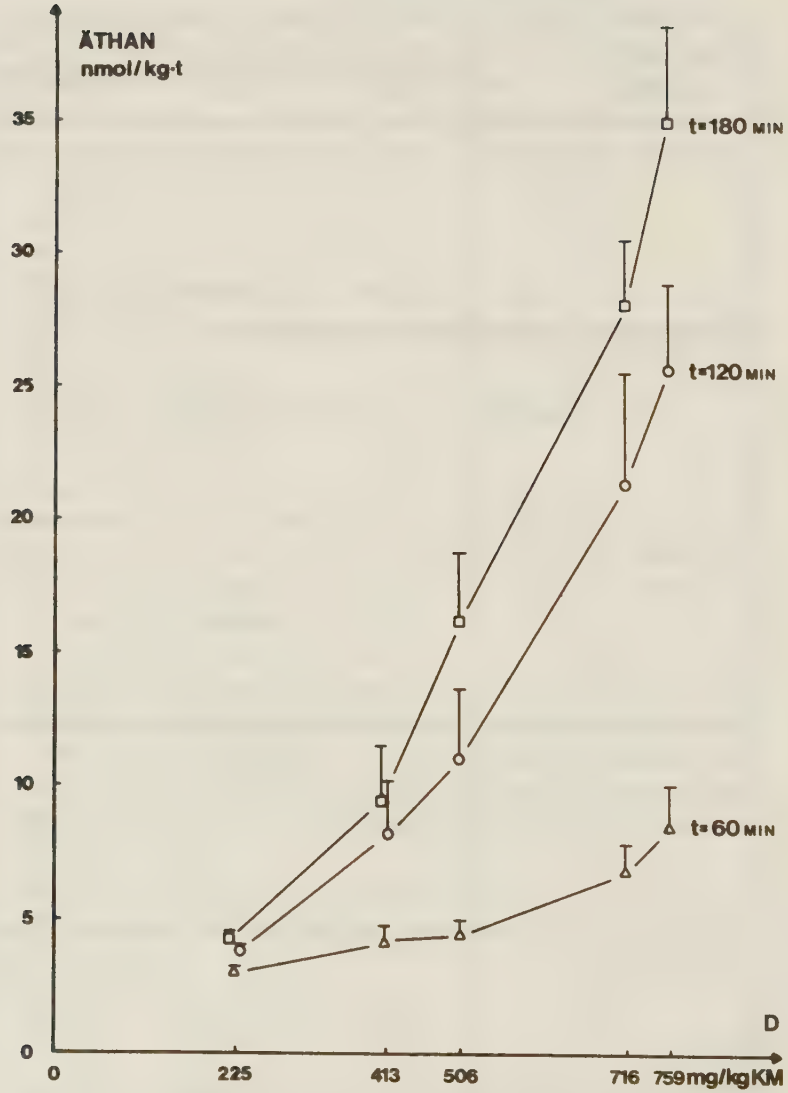


Abb. 7: Dosisabhängigkeit der Äthanexspiration nach Chrombelastung (D: Cr^{3+}-Dosis)

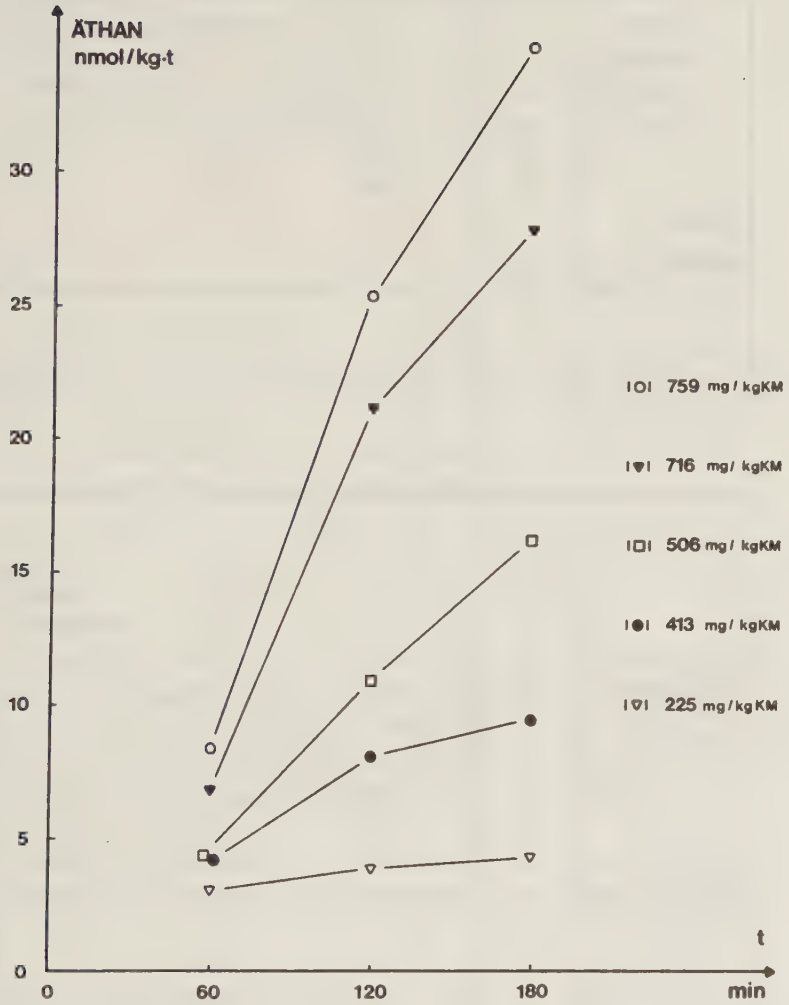


Abb. 8: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Chrombelastung

Tab. 13: Äthenexspiration nach Chrombelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Cr(III) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
225	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,80	4,55	4,72
	$s_{\bar{x}}$	0,61	0,40	0,45
413	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,91	5,06	5,53
	$s_{\bar{x}}$	0,78	0,58	0,63
506	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,40	4,13	4,08
	$s_{\bar{x}}$	0,05	0,16	0,21
716	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,36	4,34	5,81
	$s_{\bar{x}}$	0,15	0,53	0,81
759	n	4	4	4
	$\bar{x}$	5,09	4,23	5,57
	$s_{\bar{x}}$	1,02	0,29	0,24

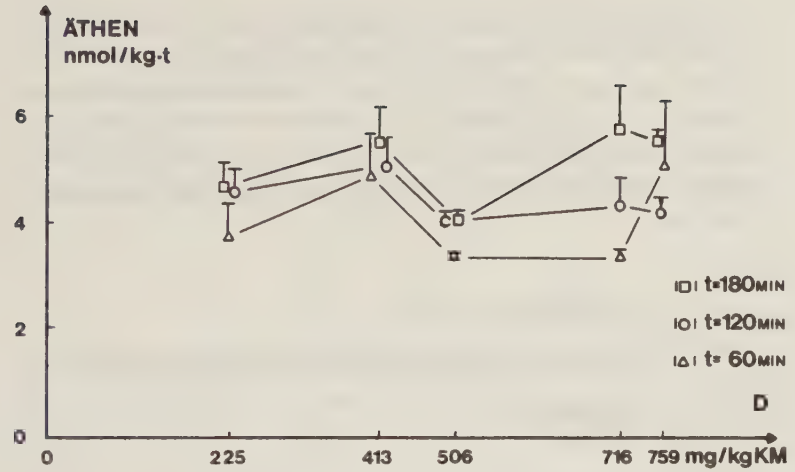


Abb. 9: Dosisabhängigkeit der Äthenexspiration nach Chrombelastung (D: Cr^{3+}-Dosis)

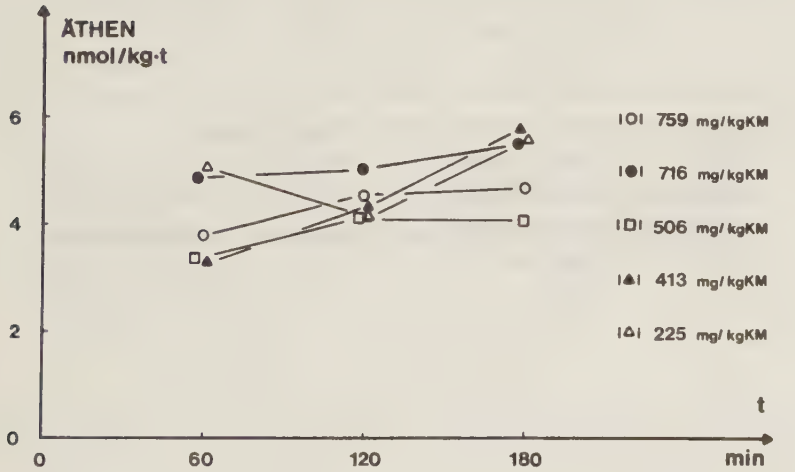


Abb. 10: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Chrombelastung

5.4. Testversuche mit Cobaltacetat

Ein typisches Chromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Cobalt(II)-acetat ist in Abbildung 11 dargestellt. Es enthält 2 Kohlenwasserstoffpeaks, welche als Äthan- (Retentionszeit 2,62 min) und Äthenpeak (Retentionszeit 2,17 min) identifiziert werden konnten.

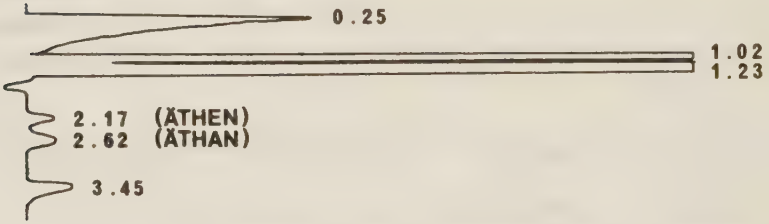


Abb. 11: Gaschromatogramm nach Versuchstierbelastung mit Cobalt(II)-acetat (29,6 mg Co^{2+}/kg KM; t = 180 min)

Weitere Kohlenwasserstoffpeaks mit Retentionszeiten bis 120 Minuten wurden nicht registriert.

Über die Abhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration von der Co^{2+}-Dosis und der Versuchsdauer informieren die Tabellen 14 und 15 sowie die Abbildungen 12, 13, 14 und 15.

Tab. 14: Äthanexspiration nach Cobaltbelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Co(II) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
5,8	n	4	4	4
	$\bar{x}$	2,91	3,81	4,49
	$s_{\bar{x}}$	0,17	0,15	0,16
19,7	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,47	4,33	4,39
	$s_{\bar{x}}$	0,31	0,24	0,16
29,6	n	4	4	4
	$\bar{x}$	2,89	4,03	4,68
	$s_{\bar{x}}$	0,18	0,15	0,31

Höhere Cobaltbelastungen sind nicht von allen Versuchstieren überlebt worden.

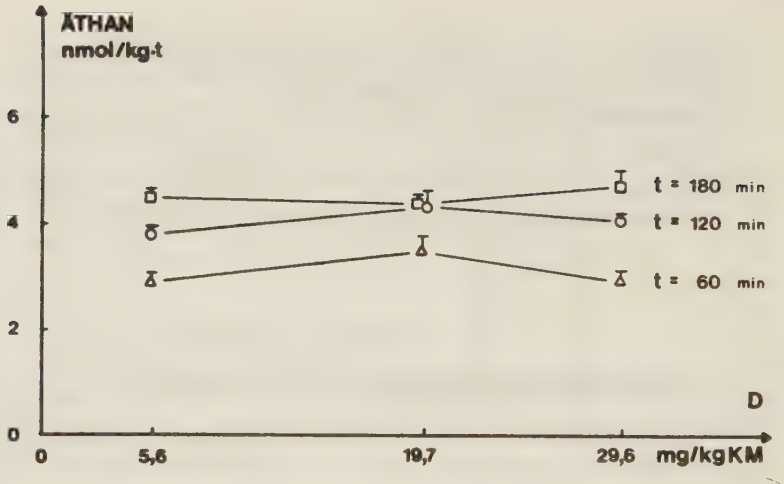


Abb. 12: Dosisabhängigkeit der Äthanexspiration nach Cobaltbelastung (D: Co^{2+}-Dosis)

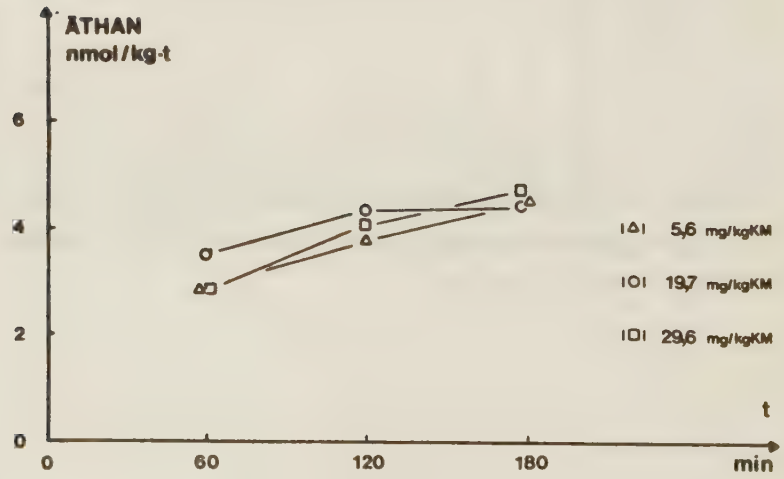


Abb. 13: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Cobaltbelastung

Tab. 15: Äthenexspiration nach Cobaltbelastung der Versuchstiere (nmol/kg.t)

Co(II) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
5,8	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,25	4,48	5,14
	$s_{\bar{x}}$	0,29	0,10	0,29
19,7	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,19	4,84	5,18
	$s_{\bar{x}}$	0,26	0,10	0,19
29,6	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,29	4,41	4,60
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,26	0,17

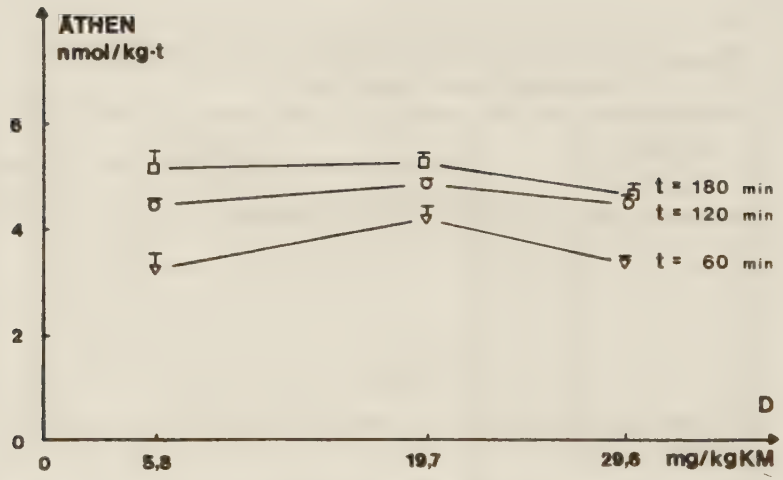


Abb. 14: Dosisabhängigkeit der Äthenexspiration nach Cobaltbelastung (D: Co^{2+}-Dosis)

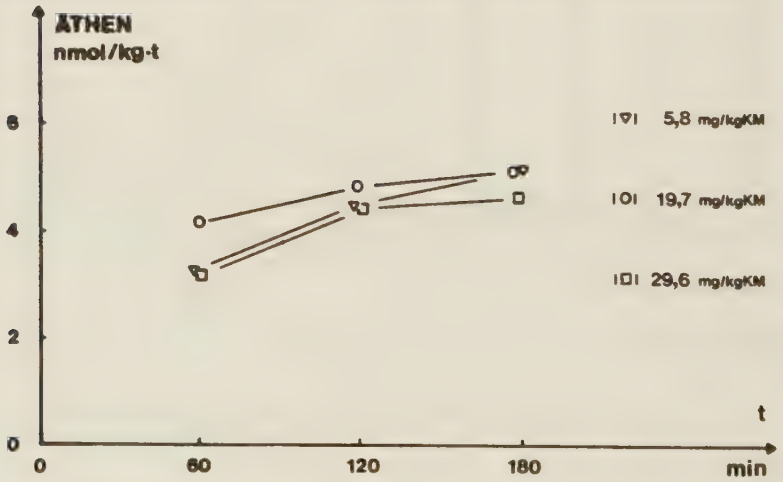


Abb. 15: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Cobaltbelastung

5.5. Testversuche mit Cerchlorid

Ein typisches Gaschromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Cer(III)-chlorid ist in Abbildung 16 dargestellt. Es enthält 2 Kohlenwasserstoffpeaks, welche als Äthan- (Retentionszeit 2,62 min) und Äthenpeak (Retentionszeit 2,17 min) identifiziert werden konnten.

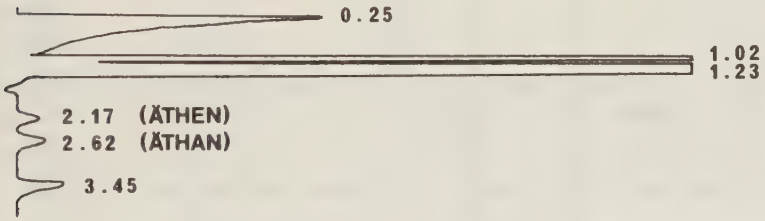


Abb. 16: Gaschromatogramm nach Versuchstierbelastung mit Cer(III)-chlorid (1500 mg Ce^{3+}/kg KM; t = 180 min)

Weitere Kohlenwasserstoffpeaks mit Retentionszeiten bis 120 Minuten wurden nicht registriert.

Über die Abhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration von der Ce^{3+}-Dosis und der Versuchsdauer informieren die Tabellen 16 und 17 sowie die Abbildungen 17, 18, 19 und 20.

Tab. 16: Äthanexspiration nach Cerbelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Ce(III) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
444	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,30	4,14	4,40
	$s_{\bar{x}}$	0,20	0,59	0,41
1 000	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,32	4,30	4,88
	$s_{\bar{x}}$	0,24	0,26	0,44
1 500	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,61	4,16	4,86
	$s_{\bar{x}}$	0,07	0,18	0,19

Höhere Cerbelastungen sind nicht von allen Versuchstieren überlebt worden.

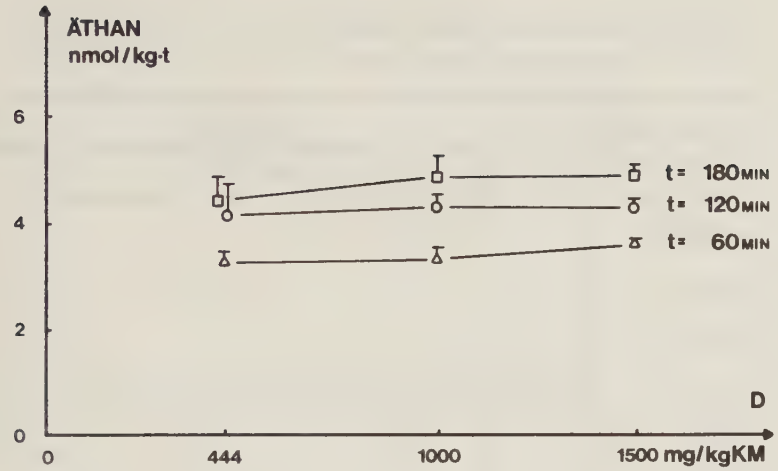


Abb. 17: Dosisabhängigkeit der Äthanexspiration nach Cerbelastung (D: Ce^{3+}-Dosis)

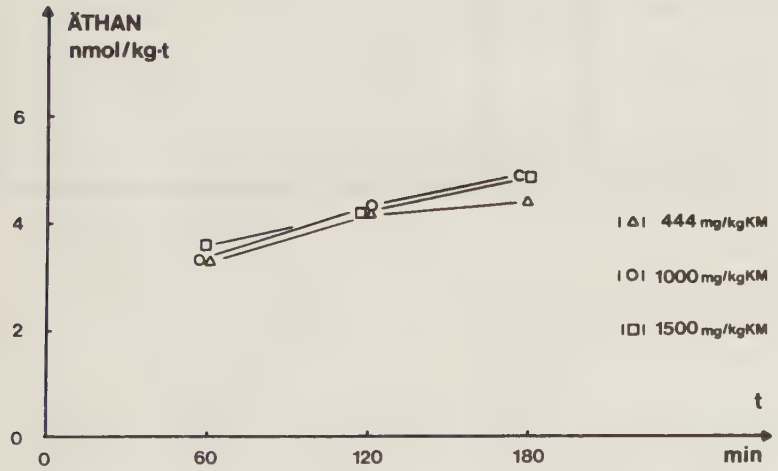


Abb. 18: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Cerbelastung

Tab. 17: Äthenexspiration nach Cerbelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Ce(III) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
444	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,36	4,92	5,73
	$s_{\bar{x}}$	0,22	0,31	0,47
1 000	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,75	4,55	4,89
	$s_{\bar{x}}$	0,30	0,31	0,08
1 500	n	4	4	4
	$\bar{x}$	5,16	4,78	4,99
	$s_{\bar{x}}$	0,83	0,43	0,49

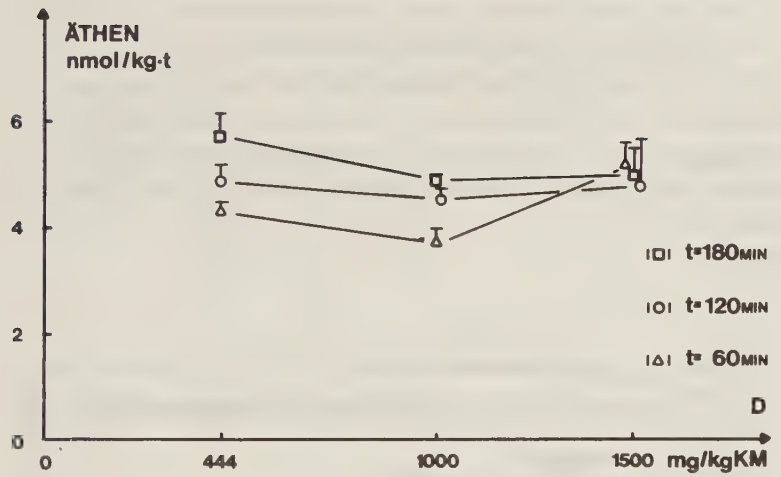


Abb. 19: Dosisabhängigkeit der Äthenexspiration nach Cerbelastung (D: Ce^{3+}-Dosis)

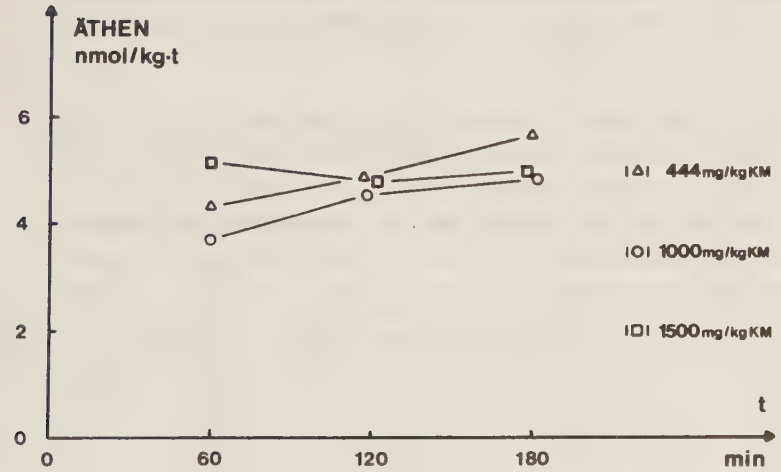


Abb. 20: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Cerbelastung

5.6. Testversuche mit Quecksilberacetat

Ein typisches Chromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Quecksilber(I)-acetat ist in Abbildung 21 dargestellt. Es enthält 2 Kohlenwasserstoffpeaks, welche als Äthan- (Retentionszeit 2,62 min) und Äthenpeak (Retentionszeit 2,17 min) identifiziert werden konnten.

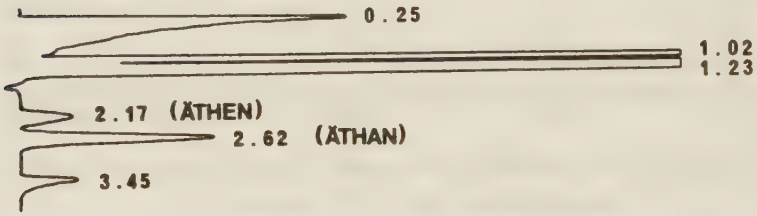


Abb. 21: Gaschromatogramm nach Versuchstierbelastung mit Quecksilber(I)-acetat (24,7 mg Hg^+/kg KM; t = 180 min)

Weitere Kohlenwasserstoffpeaks mit Retentionszeiten bis 120 Minuten wurden nicht registriert.

Über die Abhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration von der Hg^+-Dosis und der Versuchsdauer informieren die Tabellen 18 und 19 sowie die Abbildungen 22, 23, 24 und 25.

Tab. 18: Äthanexspiration nach Quecksilberbelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Hg(I) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
4,9	n	4	4	4
	$\bar{x}$	2,81	3,78	4,26
	$s_{\bar{x}}$	0,27	0,23	0,44
7,3	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,80	5,58	6,31
	$s_{\bar{x}}$	0,31	0,53	0,68
11,0	n	4	4	4
	$\bar{x}$	3,80	7,32	9,60
	$s_{\bar{x}}$	0,24	0,36	0,85
16,5	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,55	8,26	11,01
	$s_{\bar{x}}$	0,24	1,21	1,52
24,7	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,18	17,79	20,10
	$s_{\bar{x}}$	0,66	2,20	3,15

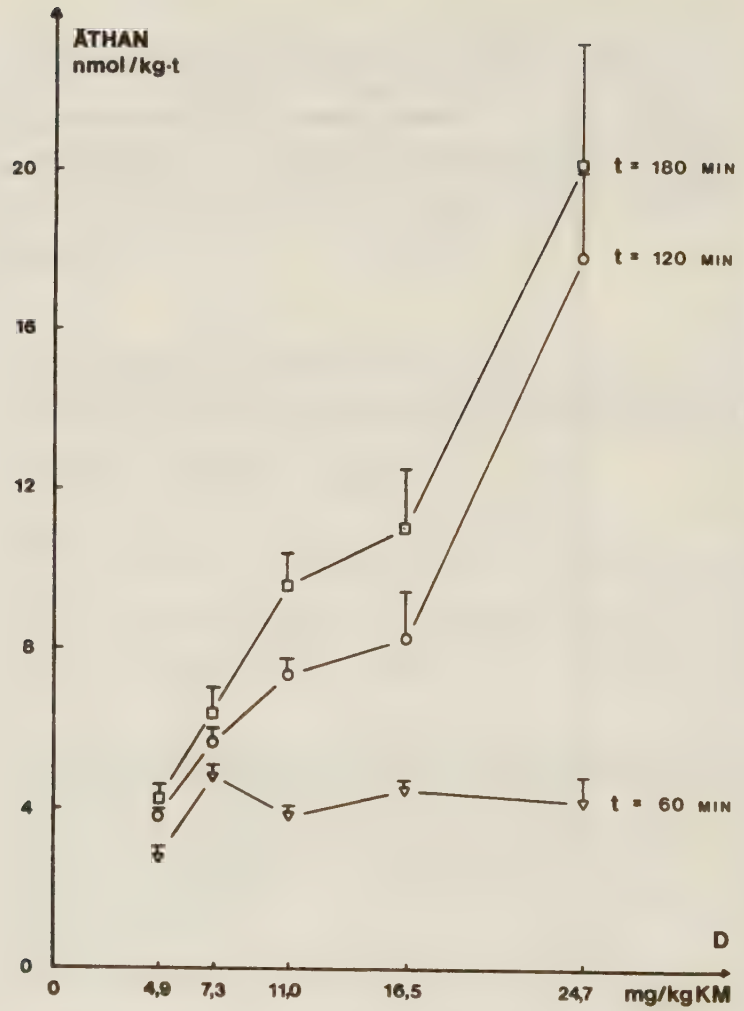


Abb. 22: Dosisabhängigkeit der Äthanexspiration nach Quecksilberbelastung (D: Hg^{+}-Dosis)

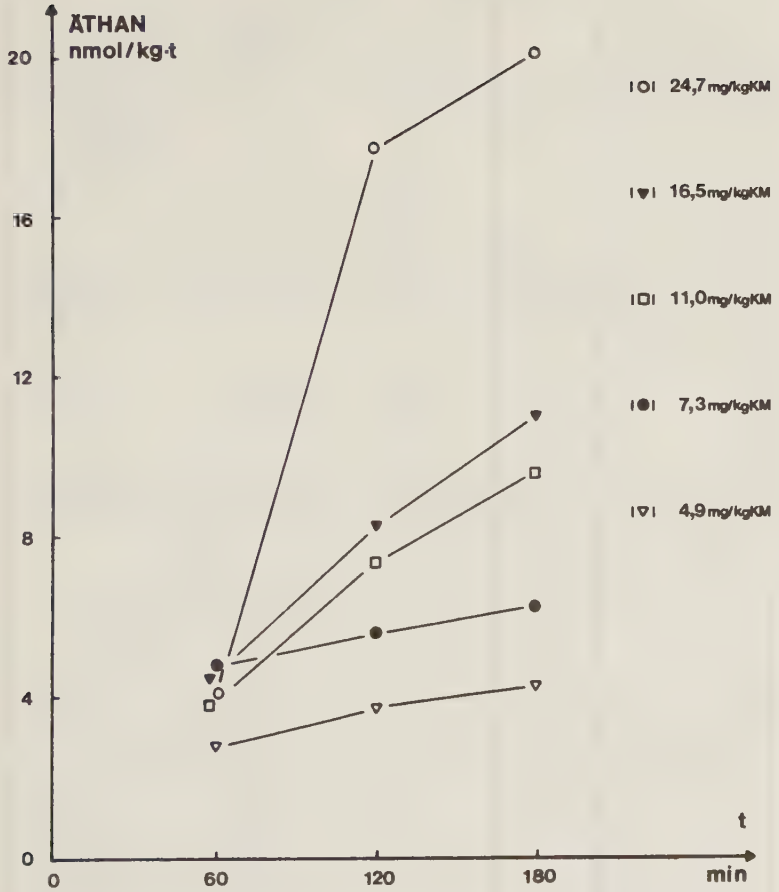


Abb. 23: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Quecksilberbelastung

Tab. 19: Äthenexspiration nach Quecksilberbelastung der Versuchstiere (nmol/kg·t)

Hg(I) (mg/kg)		t (min)		
		60	120	180
4,9	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,13	5,04	5,15
	$s_{\bar{x}}$	0,28	0,32	0,24
7,3	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,88	5,91	6,42
	$s_{\bar{x}}$	0,22	0,05	0,16
11,0	n	4	4	4
	$\bar{x}$	4,90	6,95	8,57
	$s_{\bar{x}}$	0,36	0,70	1,32
16,5	n	4	4	4
	$\bar{x}$	6,37	7,58	9,63
	$s_{\bar{x}}$	1,07	0,88	0,98
24,7	n	4	4	4
	$\bar{x}$	5,82	8,39	9,26
	$s_{\bar{x}}$	0,11	0,34	0,83

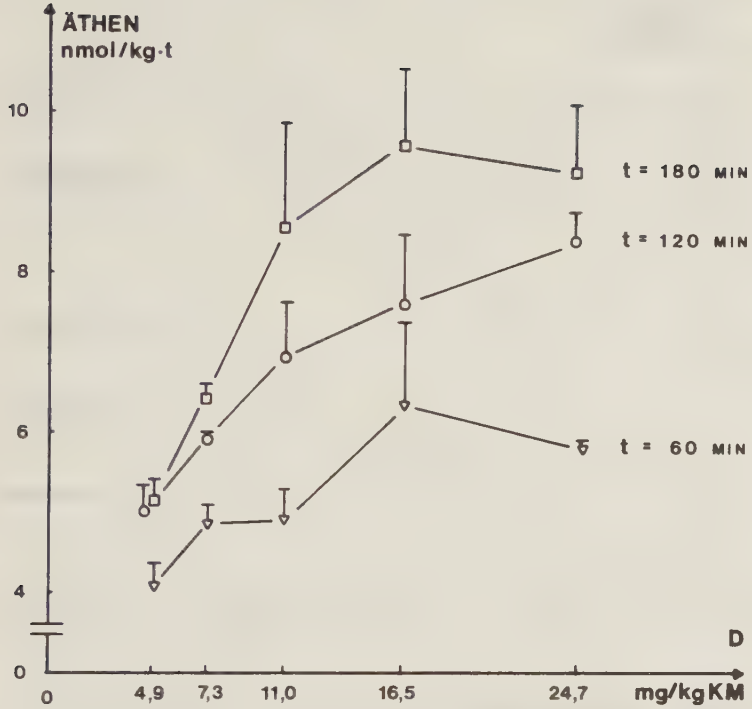


Abb. 24: Dosisabhängigkeit der Äthenexspiration nach Quecksilberbelastung (D: Hg^{+}-Dosis)

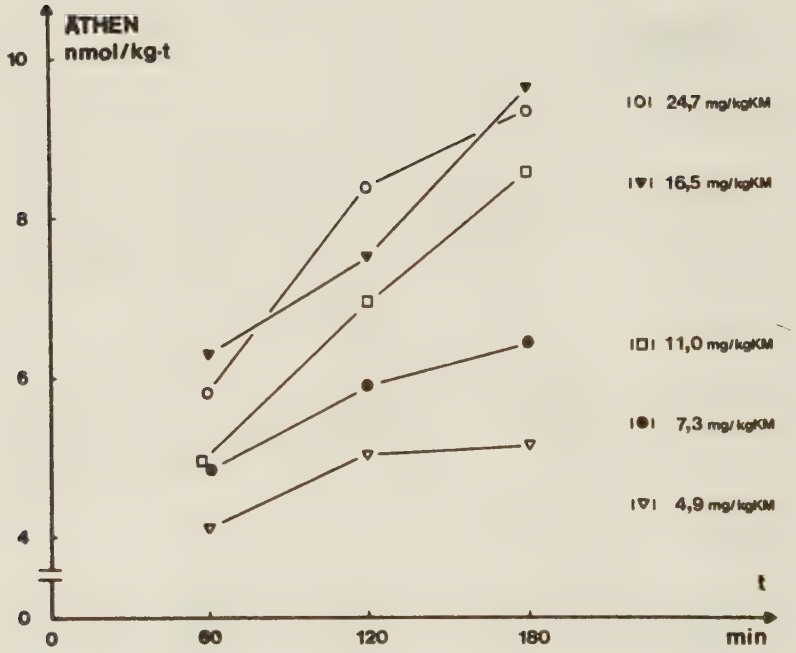


Abb. 25: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Quecksilberbelastung

6. Versuchsauswertung

6.1. Nachweisgrenzen

Zur Festlegung der Nachweisgrenze wird unterstellt, daß die Meßergebnisse x_i der Kontrollversuche eine t-Verteilung aufweisen.

Unter dieser Voraussetzung gilt bei der vorliegenden einseitigen Fragestellung (Testexspiration größer als Kontrollexspiration?), daß Meßwerte y_i der Testversuche mit Schwermetallsalzen, welche die folgende Beziehung erfüllen:

$$y \leq NG \quad \text{mit}$$
$$NG = \bar{x} + k s_{\bar{x}} \quad \text{und}$$

NG: Nachweisgrenze,
$s_{\bar{x}}$: Standardabweichung von $\bar{x}$,
k: Prüfgröße der t-Verteilung für die Irrtumswahrscheinlichkeit p und
$\bar{x}$: Arithmetischer Mittelwert der Kontrollversuche,

von den Kontrollwerten statistisch nicht differenzierbar, d. h., wie Kontrollwerte zu beurteilen sind. Wird die Nachweisgrenze von Testwerten dagegen überschritten, so sind diese von den Kontrollwerten mit der gewählten Irrtumswahrscheinlichkeit verschieden und zeigen damit eine schwermetallbedingte Steigerung der spontanen Kohlenwasserstoff-Exspiration an.

Die nach obiger Beziehung berechneten Nachweisgrenzen sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Tab. 20: Nachweisgrenzen für die untersuchten Schwermetallchloride und -acetate (nmol/kg·t)

Schwermetallchloride				
KW	p<	t (min)		
		60	120	180
Äthan	0,05	3,96	4,75	4,97
	0,01	4,37	5,19	5,20
Äthen	0,05	5,07	5,97	6,59
	0,01	5,42	6,60	6,93
Schwermetallacetate				
KW	p<	t (min)		
		60	120	180
Äthan	0,05	3,97	4,77	5,12
	0,01	4,34	5,25	5,50
Äthen	0,05	5,17	5,24	6,15
	0,01	5,86	5,72	6,75

KW: Kohlenwasserstoff

6.2. Schwermetallabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration

Anhand der vorstehenden Nachweisgrenzen dürfen die in den folgenden 2 Tabellen mit $p < 0,05$ bezeichneten Versuchsergebnisse als statistisch gesichert gelten.

Tab. 21: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine signifikante Stimulation der Äthanexspiration

Dosis (mg/kg)	t (min)		
	60	120	180
Chrom(III)-ionen			
225	> 0,05	> 0,05	> 0,05
413	< 0,05	< 0,01	< 0,01
506	< 0,05	< 0,01	< 0,01
716	< 0,01	< 0,01	< 0,01
759	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Quecksilber(I)-ionen			
4,9	> 0,05	> 0,05	> 0,05
7,3	< 0,01	< 0,01	< 0,01
11,0	> 0,05	< 0,01	< 0,01
16,5	< 0,01	< 0,01	< 0,01
24,7	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Tab. 22: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine signifikante Stimulation der Äthenexspiration

Dosis (mg/kg)	t (min)		
	60	120	180
Quecksilber(I)-ionen			
4,9	> 0,05	> 0,05	> 0,05
7,3	> 0,05	< 0,01	< 0,05
11,0	> 0,05	< 0,01	< 0,01
16,5	< 0,01	< 0,01	< 0,01
24,7	< 0,05	< 0,01	< 0,01

Aus den vorstehenden Tabellen ergibt sich, daß von den untersuchten Schwermetallionen Cr^{3+} eine statistisch gesicherte Stimulation der Äthanexspiration, und Hg^{+} eine signifikante Steigerung sowohl der Äthan- als auch der Äthenexspiration verursachen.

Von Co^{2+}- und Ce^{3+}-Ionen kann eine solche, statistisch gesicherte Aussage nicht gemacht werden.

6.3. Dosisabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration

Wenn die vorstehende Beurteilung der Testergebnisse zutreffend ist, muß sich zeigen lassen, daß die Kohlenwasserstoffexspiration

- der wirksamen Schwermetallionen eine positive Korrelation mit der Dosis aufweist, wogegen bei
- den unwirksamen Ionen kein solcher Zusammenhang herstellbar sein darf.

Zur Untersuchung dieser Forderung ist die Abhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration der Testversuche von der Schwermetalldosis nach DIXON und MOOD (Sachs 1978) mit folgendem Resultat geprüft worden (einseitige Fragestellung):

Tab. 23: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine positive Korrelation zwischen Kohlenwasserstoffexspiration und Schwermetalldosis

Schwermetallion	Äthan	Äthen
Cr^{3+}	$< 0{,}025$	$> 0{,}025$
Co^{2+}	$> 0{,}025$	$> 0{,}025$
Ce^{3+}	$> 0{,}025$	$> 0{,}025$
Hg^{+}	$< 0{,}025$	$< 0{,}025$

Aus Tabelle 23 ergibt sich, daß die Äthanexspiration mit der Cr^{3+}- und der Hg^{+}-Dosis, und die Äthenexspiration mit der Hg^{+}-Dosis signifikant ansteigt; in allen anderen Fällen ist ein solcher Zusammenhang nicht nachweisbar.

Diese Schlußfolgerung deckt sich mit der Beurteilung der Kohlenwasserstoffexspiration anhand der Nachweisgrenzen.

6.4. Zeitabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration

Schließlich sind die Testergebnisse auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Kohlenwasserstoffexspiration und Versuchsdauer t mit dem in Tabelle 24 zusammengefaßten Ergebnis nach DIXON und MOOD (Sachs 1978) überprüft worden.

Tab. 24: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine positive Korrelation zwischen Kohlenwasserstoffexspiration und Versuchsdauer

Schwermetallion	Äthan	Äthen
Cr^{3+}	$< 0{,}005$	$< 0{,}005$
Co^{2+}	$< 0{,}005$	$< 0{,}005$
Ce^{3+}	$< 0{,}005$	$< 0{,}005$
Hg^{+}	$< 0{,}005$	$< 0{,}005$

Daraus ergibt sich, daß die Äthan- und Äthenexspiration bei allen 4 untersuchten Schwermetallionen mit der Versuchsdauer signifikant ansteigt.

IV. DISKUSSION

Zunächst soll zu der Methodik der durchgeführten Untersuchungen Stellung genommen werden.

Der Nachweis von kurzkettigen, flüchtigen Kohlenwasserstoffen (KW) in der Exspirationsluft von Versuchstieren ist weithin als Hinweis für eine Lipidperoxidation in vivo anerkannt (siehe Literaturübersicht Abschnitt 1.2.3. Absatz 3 und Abschnitt 1.4.2. Absatz 1). Völlige Einigkeit besteht bezüglich des Auftretens von Äthan und Pentan als Lipidperoxidationsindikatoren, weniger Klarheit dagegen hinsichtlich des Auftretens von Äthen in der Exspirationsluft. Nach Ansicht von Lieberman und Hochstein (1966), Dumelin und Tappel (1977), Frank et al. (1978) und Schmid und Jungbauer (1980) kann jedoch auch dieser ungesättigte Kohlenwasserstoff als Hinweis für eine Lipidperoxidation in vivo betrachtet werden.

Wenn die genaue Entstehungsweise dieser Kohlenwasserstoffe aus den geschädigten Membranlipiden auch nicht bekannt ist, so darf man sie sich doch auf die im Literaturteil (s. Abschnitt 1.2.3., Fig. 4) kurz skizzierte Weise vorstellen. Welcher Kohlenwasserstoff sich bildet, ist nach Schmid (1980) weniger von der schädigenden Noxe als von der Natur des geschädigten Membranlipids abhängig. So ist von Dumelin und Tappel (1977) in vitro gezeigt worden, daß eine Peroxidation der Linolensäure vor allem die Äthanproduktion und der Linol- und Arachidonsäure hauptsächlich die Pentanproduktion stimuliert. Dagegen wird die Bildung von Äthan von so verschiedenen Radikalbildnern wie Tetrachlorkohlenstoff (Riely et al. 1974) und Fe^{2+} (Schmid 1979) provoziert, während so ähnliche Schadstoffe wie Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) und Chloroform ($CHCl_3$)

eine Äthan- bzw. Äthenexspiration hervorrufen (Schmid und Jungbauer 1980).

Weiter soll zu den Ergebnissen der durchgeführten Untersuchungen Stellung genommen werden.

Ein Vergleich von Abbildung 3 (Blindversuch ohne Versuchstiere) mit Abbildung 5 (Blindversuch mit unbehandelten Tieren) zeigt, daß unbehandelte Versuchstiere eine spontane Exhalation von kurzkettigen Kohlenwasserstoffen (Äthan und Äthen) aufweisen. Diese Tatsache wird auch von anderen Autoren bestätigt (Dillard et al. 1976; Schmid 1979; Ramstoeck et al. 1980; Schmid und Christoph 1980; Schmid und Jungbauer 1980). Man kann sich die unbeeinflußte Kohlenwasserstoffexspiration mit einer zwar geringfügigen, aber permanent stattfindenden Lipidperoxidation in vivo erklären. Ebenso sind wohl die in den Kontrollversuchen mit Natriumchlorid und Natriumacetat registrierten Kohlenwasserstoffe zu interpretieren (s. Tab. 6 bis 11).

Schmid und Christoph beobachteten 1980, daß die Konzentration der spontan exhalierten Kohlenwasserstoffe mit der Zeit einem Grenzwert zustrebt, wenn die Versuchstiere in einem geschlossenen System gehalten werden. Das gleiche konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit bei den Blindversuchen mit Versuchstieren und den Kontrollversuchen festgestellt werden (s. Tab. 6 bis 11). Ganz offensichtlich stellt sich nach einiger Zeit ein dynamisches Gleichgewicht ein zwischen spontan gebildeten, das heißt exhalierten, und metabolisierten, d. h. wiederinhalierten, Kohlenwasserstoffen, wie es bei einer sogenannten "simultanen 0/1-Kinetik" (gleichzeitig ablaufende Exhalationskinetik 0ter und Metabolisierungskinetik 1ter Ordnung) theoretisch zu erwarten ist (Schmid 1980).

Die Metabolisierung von Alkanen erfolgt hauptsäch-

lich auf dem Wege einer ω-1-Oxidation zu den entsprechenden Alkoholen:

$$CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-} \longrightarrow CH_3\text{-}CH(OH)\text{-}CH_2\text{-}$$

(Kusunose et al. 1969; Frommer et al. 1970; Frommer et al. 1972; Di Vincenzo et al. 1976).
Bei Alkenen besteht die Metabolisierung in einer Oxidation der Doppelbindung, wobei schließlich die entsprechenden Glykole gebildet werden:

$$-CH{=}CH- \longrightarrow -CH(OH)\text{-}CH(OH)-$$

(Neubauer 1901; Maynert et al. 1970; Watabe und Yamada 1975).

Katalysiert werden diese Reaktionen von mikrosomalen Monooxygenasen (Das et al. 1968; Ichihara et al. 1969; Kusunose et al. 1969; Lu et al. 1970; Maynert et al. 1970; Frommer et al. 1974). Die so entstehenden Alkohole und Glykole unterliegen weiteren Biotransformationen (Neubauer 1901; McCarthy 1964).

Aufgrund der aufgezeigten Zusammenhänge muß angenommen werden, daß bei den Blindversuchen mit Versuchstieren und den Kontrollversuchen ohne Schwermetallbelastung die Netto-Kohlenwasserstoffexhalation (d. h. die spontan exhalierte KW-Menge minus der inhalierten bzw. metabolisierten KW-Menge) gemessen worden ist. Sie liegt, je nach Meßzeitpunkt, für Äthan zwischen 3,4 und 5,0 und für Äthen zwischen 4,1 und 6,1 nmol pro kg Körpermasse und Versuchsdauer (s. Tab. 6 bis 11).

Die Testversuche mit Schwermetallionen haben ergeben, daß die spontane Nettoexspiration von
* Äthan durch höhere Cr^{3+}- und Hg^{+}-Dosen und von
* Äthen durch höhere Hg^{+}-Dosen
signifikant gesteigert wird (s. Tab. 21 und 22).
Weiter konnte eine Dosisabhängigkeit der Äthan- bzw. Äthenexspiration bezüglich der verabreichten Cr^{3+}- und Hg^{+}-Ionen aufgezeigt werden (s. Tab. 23). Keine sol-

chen Zusammenhänge konnten für Co^{2+}- und Ce^{3+}-Ionen festgestellt werden. Dies läßt nach dem derzeitigen Stand des Wissens die Schlußfolgerung zu, daß Cr^{3+}- und Hg^{+}-Ionen eine Lipidperoxidation in vivo verursachen, während Co^{2+}- und Ce^{3+}-Ionen nicht als Induktoren einer Lipidperoxidation zu betrachten sind.

Was Cobalt anbelangt, so deckt sich diese Schlußfolgerung mit den im Literaturteil erörterten vergleichbaren Untersuchungen mit Co^{2+} in vitro (Lieberman und Mapson 1964; Robinson 1965; Barber 1965; Haugaard 1968; Sharma 1977, b). Für die Metalle Chrom, Cer und Quecksilber liegen keine unmittelbar vergleichbaren, d. h. mit den gleichen Metallionen durchgeführten Untersuchungen vor.

Da eine metallstimulierte KW-Exspiration nicht nur von der Zeit (wie bei der Spontanexspiration), sondern auch von der Resorption der Schwermetalle aus der Bauchhöhle abhängig ist, sollte der zeitliche Konzentrationsverlauf im geschlossenen System - anders als bei der Spontanexspiration - einer sogenannten "simultanen 1/1-Kinetik" (gleichzeitig ablaufende Exhalations-

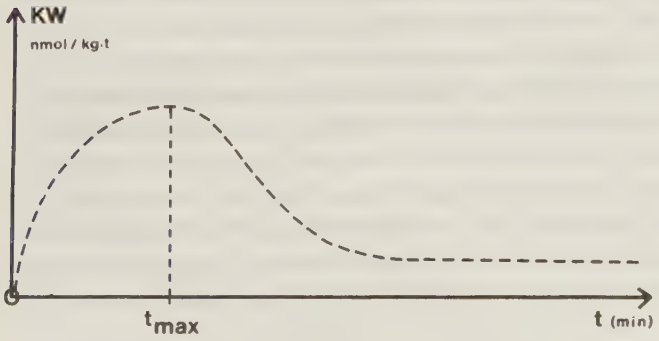


Abb. 26: Bateman-Funktion (simultane 1/1-Kinetik; t_{max}= Versuchsdauer mit der größten KW-Akkumulation)

und Metabolisierungskinetik 1ter Ordnung) entsprechen. Es ist also in diesem Fall eine sogenannte Bateman--Funktion zu erwarten (Abb. 26). Die Abbildungen 8, 23 und 25 widersprechen dieser Annahme nicht, da sie wahrscheinlich den Anfangsverlauf einer Bateman-Funktion ($t_{180min} < t_{max}$) darstellen.

Wenn Cr^{3+} und Hg^{+} Lipidperoxidation in vivo verursachen, Co^{2+} und Ce^{3+} hingegen nicht, kann man sich nach den Ursachen dieses unterschiedlichen, toxikologisch bedeutsamen Verhaltens fragen. Festzustehen scheint, daß die Lipidperoxidation durch Schwermetalle auf einer Elektronenabgabe der Metalle bzw. Metallionen und einer daraus resultierenden Radikalbildung beruht. Diese Vorgänge kann man sich - modifiziert nach Smith und Dunkley (1962) - folgendermaßen vorstellen:

1) $Me^{n+} + O_2 \longrightarrow MeO_2^{n+}$ /Me: Schwermetall

2) $MeO_2^{n+} + H^+ \longrightarrow HOO\cdot + Me^{(n+1)+}$

3) $HOO\cdot + LH \longrightarrow L\cdot + HOOH$ /LH: Lipid

4) $L\cdot + O_2 \longrightarrow LOO\cdot$

5) $LOO\cdot + LH \longrightarrow LOOH + L\cdot$

Die Vermutung ist naheliegend, daß vor allem solche Metalle und Metallionen Radikale bilden, deren Elektronenhülle durch Elektronenabgabe eine energetische Stabilisierung erfährt. Einen Überblick über die äußeren Elektronenhüllen der untersuchten Ionen gibt deshalb Tabelle 25. Bei der Beurteilung der Stabilitätsverhältnisse dieser Elektronenhüllen ist zu berücksichtigen, daß stabile, d. h. energiearme Zustände vorliegen, wenn die äußeren Elektronenorbitale voll besetzt (abgeschlossen) oder halb besetzt (Hund'sche Regel)

Tab. 25: Äußere Elektronenhüllen von Cr^{3+}-/Cr^{6+}-, Co^{2+}-/Co^{3+}-, Ce^{3+}-/Ce^{4+}- und Hg^{+}-/Hg^{2+}-Ionen (Latscha und Klein 1978)

Ionen	Elektronenhülle											
	3s	3p	3d	4s	4p	4d	4f	5s	5p	5d	5f	6s
Cr^{3+}	2	6	3									
Cr^{6+}	2	6										
Co^{2+}	2	6	7									
Co^{3+}	2	6	6									
Ce^{3+}	2	6	10	2	6	10	1	2	6			
Ce^{4+}	2	6	10	2	6	10	1	2	5			
Hg^{+}	2	6	10	2	6	10	14	2	6	10	0	1
Hg^{2+}	2	6	10	2	6	10	14	2	6	10		

sind. Das bedeutet: stabile Zustände liegen vor, wenn periphere s-, p-, d- bzw. f-Orbitale mit 2, 6, 10 bzw. 14 Elektronen voll besetzt oder mit 1, 3, 5 bzw. 7 Elektronen halb besetzt sind.

Für die untersuchten Schwermetallionen heißt dies, daß

1) Cr^{3+} durch Abgabe von 3 Elektronen ein stabiles, voll aufgefülltes $3p^6$-Orbital erhält und damit die stabile Elektronenhülle des Edelgases Argon erreicht;
2) Co^{2+} durch A u f n a h m e von 3 Elektronen ein voll gefülltes $3d^{10}$-Orbital erhalten würde, also nur schwer ein Elektron abgeben wird;
3) Ce^{3+} mit seinem voll besetzten $5p^6$-Orbital stabiler ist als Ce^{4+}, also wenig Neigung zur Elektronenabgabe zeigt, zumal seine $5s^2$-$5p^6$-Konfiguration

jener des Edelgases Xenon entspricht;

4) Hg^{+} durch Abgabe von 1 Elektron ein stabiles $5d^{10}$--Orbital erhält. Dabei ist interessant, daß die Elektronenhülle von Hg^{2+} der Hülle des Edelmetalles Platin ($5d^{9}6s^{1}$) ähnlich ist, da nach Hollemann und Wiberg (1976) die Elektronenaufnahme und -abgabe in die peripheren Orbitale nicht restlos geklärt ist.

Es besteht also eine auffällige Übereinstimmung in der Bereitschaft der Schwermetallionen, Elektronen abzugeben und ihrer Fähigkeit, in vivo eine Lipidperoxidation zu verursachen, was den Gedanken an mögliche Zusammenhänge durchaus berechtigt erscheinen läßt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die Schwermetallionen Cr^{3+}, Co^{2+}, Ce^{3+} und Hg^{+} auf radikalbildende Eigenschaften in vivo untersucht.

Zu diesem Zweck wurde männlichen und weiblichen Mäusen das entsprechende Chrom- und Cerchlorid bzw. Cobalt- und Quecksilberacetat in isotoner wässeriger Lösung intraperitoneal verabreicht. Die Exspirationsluft der Mäuse wurde gaschromatographisch auf flüchtige, kurzkettige Kohlenwasserstoffe untersucht, welche als Indikatoren für eine radikalinduzierte Lipidperoxidation in vivo gelten.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Verabreichung von Chrom(III)-chlorid führte zu einer dosis- und zeitabhängigen Äthanexspiration, nicht jedoch zu einer Äthenexspiration;
2. Verabreichung von Cobalt(II)-acetat und Cer(III)--chlorid verursachte keine Exspiration von flüchtigen Kohlenwasserstoffen;
3. Verabreichung von Quecksilber(I)-acetat ergab eine dosis- und zeitabhängige Exspiration von Äthan und Äthen.

Hieraus wird der Schluß gezogen, daß Cr^{3+}- und Hg^{+}--Ionen in vivo potentiell Radikalbildung und Lipidperoxidation verursachen, während dies für Co^{2+} und Ce^{3+} nicht nachgewiesen werden konnte.

In der Diskussion der Ergebnisse wird auf einen möglichen Zusammenhang zwischen radikalbildenden Eigenschaften der untersuchten Schwermetallionen und ihrer Elektronenkonfiguration hingewiesen.

V. SUMMARY

In this study the ability of the heavy metal ions Cr^{3+}, Co^{2+}, Ce^{3+} and Hg^{+} to induce free radicals in vivo was investigated.

For this reason male and female mice were injected intraperitonally with the corresponding chromium- and cerium chloride respectively cobaltous- and mercurial acetate in an isotonic aqueous solution. Breath samples of mice were investigated gaschromatographically for volatile, short-chained hydrocarbons which are considered as indicators for radical-induced lipid peroxidation in vivo.

The results may be summarized as follows:

1. Application of chromium(III)-chloride led to a dose- and time-dependent ethane expiration, but not to an expiration of ethylene;
2. No expiration of volatile hydrocarbons was induced by application of cobaltous(II)-acetate and cerium(III)-chloride;
3. Application of mercurial(I)-acetate resulted in a dose- and time-dependent expiration of ethane and ethylene.

It is concluded that Cr^{3+}- and Hg^{+}-ions are able to produce radicals and lipid peroxidation in vivo, whereas this effect could not be demonstrated for Co^{2+} and Ce^{3+}.

Discussing the results a possible connection between the radical-inducing capacity of the investigated heavy metal ions and their electronic configuration is indicated.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1) Aberg B, Ekman L, Falk R, Greitz U, Persson G, Smith J — Metabolism of methylmercury Arch. Environ. Health 19, 478-484, 1969

2) Aaes-Joergensen E — Autoxidation and antioxidants Vol. 2 New York: Wiley (Interscience), 1962

3) Alpert D, Likovsky WH, Fox M, Pierce PE, Hinman AR — Organic mercury poisoning - Alamogordo, New Mexico. Viral diseases branch, Epidemiology Program Communication, Public Health Service HSM-NCDC-Altanta EPI 70-42-2 vom 27.3.1970

4) Arvela P — The in vitro effects of lanthanons on lipid peroxidation and drug metabolism in rat Acta Physiol. Scand. 396 (S), Nr. 234, 1973

5) Arvela P — The effect of α-tocopherol on cerium induced changes in drug and lipid metabolism of rat Experientia 30, 1061-1062, 1974

6) Arvela P — Toxicity of rare-earths in: Progress in Pharmacology, Vol. 2 Grobecker H, Kahl GF, Klaus W, Schmitt H, van Zwieten PA (eds.) Stuttgart-New York: Gustav Fischer, 1979

7) Arvela P, Kärki NT — Effect of cerium on drug metabolizing activity in rat liver
Experientia 27, 1189-1190, 1971

8) Arvela P, Kärki NT — Effect of phenobarbital pretreatment on cerium induced impairment of drug metabolism in rat liver
Acta Pharmacol. Toxicol. 31, 380-386, 1972

9) Arvela P, Kärki NT — In vivo effects of cerium on lipid peroxidation and drug oxidizing system in rat liver
Proc. Europ. Soc. Tox. 16, 248-251, 1974

10) Baird MB, Massie HR, Piekielniak MJ — Formation of lipid peroxides in isolated rat liver microsomes by singlet molecular oxygen
Chem. Biol. Interactions 16, 145-153, 1977

11) Barber AA — Lipid peroxidation in rat tissue homogenates: interaction of iron and ascorbic acid as the normal catalytic mechanism
Lipids 1, 146-151, 1965

12) Barber AA, Bernheim F — Lipid peroxidation: its measurement, occurrence and significance in animal tissues
Adv. Gerontol. Res. 2, 355-403, 1967

13) Becker G — The biological and toxicological role of chromium
Dtsch. Apth. Ztg. 119, 633-636, 1979

14) Beuter W — Persönliche Mitteilung, 1980

15) Bigaliev AB — Mechanisms of the cytogenetic effect of chromium as an environmental pollutant
Dokl. Akad. Neuk. SSSR 245, 1234-1236, 1979

16) Brabham DE, Lee JL — Excited state interactions of α-tocopherol and molecular oxygen
J. Phys. Chem. 80, 2292-2296, 1976

17) Brierely GP, Jurkowitz M, Scott KM — Ion transport by heart mitochondria; XXI. Differential effects of mercurial reagents on ATPase activity and on ATP-dependent swelling and contraction
J. Biol. Chem. 246, 2241-2251, 1971

18) Brierely GP, Jurkowitz M, Scott KM — Ion transport by heart mitochondria; XXVII. The relation of mercurial--dependent ATPase activity to ion movements
Arch. Biochem. Biophys. 159, 742-756, 1973

19) Christen HR — Chemie
11. Aufl.
Frankfurt: Diesterweg-Salle, 1977

20) Chvapil M, Ryan JN, Brada Z — Effects of selected chelating agents and metals on the stability of liver lysosomes
Biochem. Pharmacol. 21, 1097-1105, 1972

21) Cikrt M — Enterohepatic circulation of ^{64}Cu, ^{52}Mn and ^{203}Hg in rats
Arch. Toxicol. 31, 51-59, 1973

22) Clarkson TW — The pharmacology of mercury compounds Ann. Rev. Pharmacol. 12, 375-406, 1972

23) Cohen G — Lipid peroxidation: detection in vivo and in vitro through the formation of saturated hydrocarbon gases Symosium on Oxygen Free Radicals and Tissue Damage der Ciba Foundation vom 6.-8.6.1978 in London

24) Cohen G, Riely CA, Lieberman M — Ethane formation from lipid peroxides in mammalian cells Fed. Proc. 27, 648 (abstr.), 1968

25) Conroy PJ, Nodes JT, Slater TF, White GW — Carcinostatic activity of 4-hydroxy--2-pent-en-1-al against trans-plantable murine tumor lines Eur. J. Cancer 11, 231-240, 1975

26) Dahle LK Hill EG, Holman RT — The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters Arch. Biochem. Biophys. 98, 253-261, 1962

27) Das ML, Orrenius S, Ernster L — On the fatty acid and hydrocarbon hydroxylation in rat liver microsomes Eur. J. Biochem. 4, 519-523, 1968

28) Demopoulos HB — The basic of free radical pathology Fed. Proc. 32, 1859-1861, 1973

29) Dillard CJ Dumelin EE, Tappel AL — Effect of dietary vitamin E on expiration of pentane and ethane by the rat Lipids 12, 109-114, 1976

30) Dillard CJ, Tappel AL — Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes. Lipids 6, 715-721, 1971

31) Dillard CJ, Tappel AL — Fluorescent products from reaction of peroxidizing polyunsaturated fatty acids with phosphatidyl ethanolamine and phenylalanine. Lipids 8, 183-189, 1973

32) Di Vincenzo GD, Kaplan CJ, Dedinas J — Characterization of the metabolites of methyl n-butyl ketone and methyl ethyl ketone in guinea pig serum and their clearance. Toxicol. Appl. Pharmacol. 36, 511-522, 1976

33) Draper HH, Csallany AS — Metabolism and function of vitamin E. Fed. Proc. 28, 1690-1695, 1969

34) Dumelin EE, Tappel AL — Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation of polyunsaturated fatty acids and decomposition of preformed hydroperoxides. Lipids 12, 894-899, 1977

35) Durbin PW — Metabolic characteristics within a chemical family. Health Physics 2, 225-238, 1960

36) Durbin PW, Williams MH, Gee M, Newman RH, Hamilton JG — Metabolism of the lanthanons in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. 91, 78-85, 1956

37) Enterline PE — Respiratory cancer among chromate workers. J. Occup. Med. 16, 523-526, 1974

38) Epstein J, Gershon D — Studies on ageing in nematodes; IV. The effect of antioxidants on cellular damage and life span Mech. Age. Dev. 1, 257-264, 1972

39) Ewaldsson E, Magnusson G — Distribution of radiocerium and radiopromethium in mice Acta Radiol. Therap. Phys. Biol. 2, 65-72, 1964

40) Fahrenholtz SR, Doleiden FH, Trozzolo AM, Lamola AA — On the quenching of singlet oxygen by α-tocopherol Photochem. Photobiol. 20, 505-509, 1974

41) Fargo LL, Fleming RW — Effects of chromate and cadmium on most probable number estimates of nitrofying bacteria in activated sludge Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18, 350-354, 1977

42) Flohé L — Glutathione peroxidase: fact and fiction Symposium on Oxygen Free Radicals and Tissue Damage der Ciba Foundation vom 6.-8.6.1978 in London

43) Fong K, Mc Cay PB, Poyer JL — Evidence that peroxidation of lysosomal membranes is initiated by hydroxyl free radicals produced during flavin enzyme activity J. Biol. Chem. 248, 7792-7797, 1973

44) Fongo A, Palinieri F, Ritvay J, Quagliariello E — Kinetics and inhibitor sensitivity of the mitochondrial phosphat carrier in: Membran protein in transport and phosphorylation

Azzone GF (ed.)
Amsterdam: North Holland Publ. Co, 1974

45) Foote ChS — Photosensitized oxidation and singlet oxygen: consequences in biological systems
in: Free radicals in biology, Vol. 2
Pryor WA (ed.)
New York: Academic Press, 1976

46) Foote ChS, Ching Y-T, Geller GG — Chemistry of singlet oxygen; XVIII. Rates of reaction and quenching of α-tocopherol and singlet oxygen
Photochem. Photobiol. 20, 511-513, 1974

47) Frank H, Hintze T, Remmer H — Volatile hydrocarbons in breath as an indicator for peroxidative degradation of lipids
2nd International Symposium on Headspace Analysis
im Oktober 1978 in Überlingen

48) Friberg L, Vostal J — Mercury in the environment. An epidemiological and toxicological appraisal
3. Aufl.
Cleveland, Ohio: CRC Press, 1976

49) Fridovich I — Oxygen radicals, hydrogen peroxide and oxygen toxicity
in: Free radicals in biology, Vol. 1
Pryor WA (ed.)
New York: Academic Press, 1976

50) Fridovich I
Superoxide dismutases: defence against endogenous superoxide Symposium on Oxygen Radicals and Tissue Damage der Ciba Foundation vom 6.-8.6.1978 in London

51) Frommer U, Ullrich V, Staudinger H
Hydroxylation of aliphatic compounds by liver microsomes; I. The distribution pattern of isomeric alcohols Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 351, 903-912, 1970

52) Frommer U, Ullrich V, Staudinger H, Orrenius S
The monooxygenation of n-heptane by rat liver microsomes Biochim. Biophys. Acta 280, 487-494, 1972

53) Frommer U, Ullrich V, Orrenius S
Influence of inducers and inhibitors on the hydroxylation pattern of n-hexane in rat liver microsomes FEBS Lett. 41, 14-16, 1975

54) Gavino VC, Csallany AS
Chemical oxidation of d-α-tocopherol by superoxide and the effect of d-α-tocopherol on superoxide dismutase activity in mice tissues Fed. Proc. 36, 852 (abstr.), 1977

55) Gilman JPW, Ruckerbauer CM
Metal carcinogenesis Cancer Res, 22, 152-158, 1962

56) Glenn JL, Tischer K, Stein A
Rare-earth fatty liver; I. Octanoate oxidation and energy production Biochim. Biophys. Acta 62, 35-40, 1962

57) Grant WC, Root WS — Fundamental stimulus for erythropoiesis
Physiol. Rev. 32, 449-498, 1952

58) Haber F, Weiss J — The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts
Proc. Roy. Soc. London 147, 332-351, 1934

59) Hafeman DG, Hoekstra WG — Protection against carbontetrachloride induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium and methionine as measured by ethane evolution
J. Nutr. 107, 656-665, 1977

60) Haley TJ — Pharmacology and toxicology of the rare earth elements
J. Pharm. Sci. 54, 663-670, 1965

61) Hänninen O, Puukka R — Effect of digitonin of UDP-glucuronyltransferase in microsomal membranes
Finnish Chem. J. 43, 451-456, 1970

62) Hapke H-J — Toxikologie für Veterinärmediziner
Stuttgart: Ferdinand Enke, 1975

63) Harada Y — Clinical investigations on Minamata disease; C. Congenital (or fetal) Minamata disease
in: Minamata disease
Kutsuna M (ed.)
Japan: Kumamoto University, 1968 (93)

64) Haugaard N — Cellular mechanism of oxygen toxicity
Physiol. Rev. 48, 311-374, 1968

65) Henschler D — Wichtige Gifte und Vergiftungen in: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 2. Aufl. Forth W, Henschler D, Rummel W (Hrsg.) Mannheim: Bibliographisches Institut, 1977

66) Hollemann AF, Wiberg E — Lehrbuch der anorganischen Chemie 81.-90. Aufl. Berlin-New York: Walter de Gruyter, 1976

67) Hosain F, Reba RC, Wagner HN — Y-169 diethylenetriaminepenta-acetic acid complex. A new radiopharmaceutical for brain scanning Radiology 91, 1199-1203, 1968

68) Hoschek R — Die "Cer-Pneumokoniose" nach Einatmung von natürlichen Seltenen Erden. Eine bisher unbekannte Berufskrankheit Stuttgart: A. W. Genter, 1968

69) Hunter FE, Scott A, Hoffstein PE, Guerre F, Weinstein J, Scheider A, Schutz B, Fink J, Ford L, Smith E — Studies on the mechanism of ascorbate-induced swelling and lysis of isolated liver mitochondria J. Biol. Chem. 239, 604-613, 1964

70) Ichihara K, Kusunose E, Kusunose M — Microsomal hydroxylation of decane Biochim. Biophys. Acta 176, 713-719, 1969

71) Inoue B — Effects of environmental pollutants on the function of biological membranes; 1. Inhibitory effect of membrane stabilizing reagents on erythrocyte membrane damage induced by mercury compounds
Okayama - ken Kankyo Hoken Senta Nempo 2, 228-232, 1978

72) Jensen S, Jernelöv A — Biological methylation of mercury in aquatic organisms.
Nature Lond. 223, 753-754, 1969

73) Kádas I, Lapis K, Jobst K — Electron microscopic studies of liver changes induced by lanthanum trichloride
Acta Morph. Acad. Sci. Hung. 22, 343-357, 1974

74) Keck G — Toxicologie actuelle du mercure et de ses dérivés: la contamination mercurielle
Rev. Méd. Vét. 130, 7-47, 1979

75) Khan AU — Singlet molecular oxygen from superoxide anion and sensitized fluorescence of organic molecules
Science 168, 476-477, 1970

76) Kieczka H, Schulze R, Kappus H — Influence of different O_2- and Fe(II)-concentrations on the CCl_4--induced lipid peroxidation in vitro and in vivo
Arch. Pharmacol. 307 (S) Nr. 81, 1979

77) Kochi JK — Mechanisms of organic oxidation and reduction by metal complexes
Science 155, 415-424, 1967

78) Köster U, Albrecht D, Kappus D
Evidence for carbon tetrachloride- and ethanol-induced lipid peroxidation in vivo demonstrated by ethane production in mice and rats
Tox. Appl. Pharm. 41, 639-648, 1977

79) Kusunose M, Ichihara K, Kusunose E
Oxidation of n-hexadecane by mouse liver microsomal fraction
Biochim. Biophys. Acta 176, 679-681, 1969

80) Kyker GC
Rare earths
in: Mineral metabolism, Vol. 2
Comar CL, Bronner F (eds.)
New York: Academic Press, 1962

81) Lai C, Piette LH
Hydroxyl radical production involved in lipid peroxidation of rat liver microsomes
Biochem. Biophys. Res. Comm. 78, 51-59, 1977

82) Latscha HP, Klein HA
Anorganische Chemie
Berlin-Heidelberg-New York: Axel Springer, 1978

83) Lazarus SS, Goldner MG, Volk BW
Selective destruction of pancreatic β-cells by cobaltous chloride in the dog
Metabolism 2, 513-516, 1953

84) Lieberman M, Hochstein P
Ethylene formation in rat liver microsomes
Science 152, 213-214, 1966

85) Lieberman M Mapson LW
Genesis and biogenesis of ethylene
Nature 204, 343-349, 1964

86) Lissner J, Hug O, Breit A, Büll U, Bunde E, Frei KW, Heinze HG, von Lieven H, Trott KR
Strahlenchemische und biochemische Veränderungen
in: Radiologie
Lissner J, Hug O (Hrsg.)
Stuttgart: Ferdinand Enke, 1975

87) Lu AY, Strobel HW, Coon MJ
Properties of a solubilized form of the cytochrome P-450-containing mixed-function oxidase of liver microsomes
Molec. Pharmac. 6, 213-220, 1970

88) Mac Kenzie RD, Byerrum RU, Deekar CF, Hoppert CA, Langham RF
Chronic toxicity studies; II. Hexavalent and trivalent chromium administered in drinking water to rats
AMA Arch. Ind. Health 18, 232-234, 1958

89) Magnusson G
The behavior of certain lanthanons in rats
Acta Pharmacol. Toxicol. 20, 1-93, 1963

90) Malshet VG, Tappel AL, Burns VM
Fluorescent products of lipid peroxidation; II. Methods for analysis and characterisation
Lipids 9, 328-332, 1974

91) Marks F, Hecker E
Abhängigkeit der Lipidperoxidation in Rattenlebermikrosomen von Fe^{2+}-Ionen
Z. Physiol. Chem. 348, 727-729, 1967

92) Maynert EW, Foreman RL, Watabe T
Epoxides as obligatory intermediates in the metabolism of olefins to glycols
J. Biol. Chem. 245, 5234-5238, 1970

93) McCarthy RD
Mammalian metabolism of straight-chain saturated hydrocarbons
Biochim. Biophys. Acta 84, 74-79, 1964

94) Mc Cay PB, Fong K, Lai EK, King MM
Possible role of vitamin E as a free radical scavenger and singlet oxygen quencher in biological systems which initiate radical-mediated reactions
in: Tocopherol, oxygen and biomembranes
de Duve C, Hayaishi O (eds.)
Amsterdam-New York: Elsevier / North-Holland Biomedical Press, 1978

95) Mead JF
Free radical mechanism of lipid damage and consequences for cellular membranes
in: Free radicals in biology, Vol. 1
Pryor WA (ed.)
New York: Academic Press, 1976

96) Menke KH, Huss W
Tierernährung und Futtermittelkunde
Stuttgart: Eugen Ulmer, 1975

97) Moeller T
Cer
in: The chemistry of lanthanides
Sisler HH, van der Werf CA (eds.)
London: Chapman & Hall Ltd., 1963

98) Moeschlin S
Klinik und Therapie der Vergiftungen
5. Aufl.
Stuttgart: Georg Thieme, 1972

99) Muggenburg BA, Mauderly JL, Boecker BB, Hahn FF, McClellan RO
Prevention of radiation pneumonitis from inhaled cerium-144 by lung lavage in beagle dogs
Am. Rev. Resp. Dis. 111, 795-802, 1975

100) Neubauer O
Über Glykuronsäurepaarung bei Stoffen der Fettreihe
Arch. Exp. Path. Pharmakol. 46, 133-154, 1901

101) Niehaus WG, Samuelsson B
Formation of malondialdehyd from phospholipid arachidonate during microsomal lipid peroxidation
Europ. J. Biochem. 6, 126-130, 1968

102) Nomura S
Epidemiology of Minamata disease
in: Minamata disease
Kutsuna M (ed.)
Japan: Kumamoto University, 1968

103) O'Brien TD, Sneed MC, Brasted RC
Scandium, yttrium and lanthanides
in: Comprehensive inorganic chemistry
Vol. 4, part II
Sneed MC, Brasted RC (eds.)
Princeton: D. van Nostrand Co. Inc., 1955

104) Oh SH, Ganther HE, Hoekstra WG
Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes
Biochem. 13, 1825-1829, 1974

105) Ottolenghi A
Interaction of ascorbic acid and mitochondrial lipids
Arch. Biochem. Biophys. 79, 355-363, 1959

106) Paschen W, Weser U
Problems concerning the biochemical action of superoxide dismutase (erythrocuprein)
Z. Physiol. Chem. 356, 727-737, 1975

107) Peters JW, Foote CS
Chemistry of superoxide ion; II. Reaction with hydroperoxides
J. Am. Chem. Soc. 98, 873-875, 1976

108) Plaa GL, Witschi H
Chemicals, drugs and lipid peroxidation
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 16, 125-141, 1976

109) Power JA, Harris JW, Bainton DF
Lipid peroxidation and morphological changes in mammalian cells treated with glutathione oxidant, diamide
Exp. Cell. Res. 105, 455-460, 1977

110) Pryor WA
Thermische Homolyse
in: Einführung in die Radikalchemie
Pryor WA (ed.)
Weinheim: Verlag Chemie, 1974, a

111) Pryor WA
Photochemische Bildung von Radikalen
in: Einführung in die Radikalchemie
Pryor WA (ed.)
Weinheim: Verlag Chemie, 1974, b

112) Pryor WA
Radikalbildung durch Redoxreaktion
in: Einführung in die Radikalchemie
Pryor WA (ed.)
Weinheim: Verlag Chemie, 1974, c

113) Pryor WA
The role of free radical reactions in biological systems
in: Free radicals in biology, Vol. 1
Pryor WA (ed.)
New York: Academic Press, 1976

114) Rae T
The hemolytic of particulate metals (cadmium, chromium, cobalt, iron, molybdenum, nickel, tantalum, titanium, zinc and a cobalt-chromium alloy)
J. Pathol. 125, 81-89, 1978

115) Ramstoeck ER, Hoekstra WG, Ganther HE
Trialkyllead metabolism and lipid peroxidation in vivo in vitamin E- and selenium-deficient rats, as measured by ethane production
Toxicol. Appl. Pharmacol. 54, 251-257, 1980

116) Recknagel RO, Glende EA Hruszkewycz AM
Chemical mechanisms in carbon tetrachloide toxicity
in: Free radicals in biology, Vol. 3
Pryor WA (ed.)
New York: Academic Press, 1977

117) Reppel L
Antikoagulantien; II. Heparine, Seltene Erden und Thrombolytika
Pharmazie 19, 189-196, 1964

118) Riely CA, Cohen G, Lieberman M
Ethane evolution: a new index of lipid peroxidation
Science 183, 208-210, 1974

119) Robinson JD
Structural changes in microsomal suspensions; III. Formation of peroxides
Arch. Biochem. Biophys. 112, 170-179, 1965

120) Sachs L
Angewandte Statistik
5. Aufl.
Berlin-Heidelberg-New York: Axel Springer, 1978

121) Salei PJ — Toxicity of large doses of cobalt in relation to animals
Veterinaria 10, 84-85, 1970

122) Saprin AN, Piette LH — Spin trapping and its application in the study of lipid peroxidation and free radical production with liver microsomes
Arch. Biochem. Biophys. 180, 480-492, 1977

123) Schauenstein E — Autoxidation of polyunsaturated esters in water: chemical structure and biological activity of the products
J. Lipid Res. 8, 417-428, 1967

124) Schmid A — Causes of drug related iron--intoxication. Ethane expiration of mice following intraperitoneal Fe^{2+}-administration
Arch. Pharmacol. 307 (S), Nr. 86, 1979

125) Schmid A — Persönliche Mitteilung, 1980

126) Schmid A, Christoph M — Untersuchungen zur Genese der parenteralen Eisenvergiftung
Der praktische Tierarzt 61, 589-596, 1980

127) Schmid A, Jungbauer C — Expiration of foreign substances by mice following parenteral loading with chlorinated methane derivates
Arch. Pharmacol. 311 (S), Nr. 76, 1980

128) Schutz HW, Day EA, Sinnhuber RO
Symposium on foods: lipids and their oxidation
Westport, Conn.: Avi. Publ. 1962

129) Schurig R, Oberdisse E
The influence of rare earth on hepatic gluconeogenesis
Naunyn Schmidebergs Arch. Pharmacol. 275, 419-433, 1972

130) Sharma OP
Interaction of mitochondrial substrates and prooxidant factor during nonenzymic lipid peroxidation in rat brain
Ind. J. Biochem. Biophys. 14, 264-266, 1977, a

131) Sharma OP
Role of nonhaem iron in nonenzymic lipid peroxide formation in rat brain
Ind. J. Biochem. Biophys. 14, 302-304, 1977, b

132) Sifri EM, Hoekstra WG
Effect of lead peroxidation in rats deficient or adequate in selenium and vitamin E
Fed. Proc. 37, 757 (abstr.), 1978

133) Silbauch SA, Felicetti SA, Muggenburg BA, Boecker B
Multiple bronchopulmonary lavages for removal of ^{144}Ce in fused clay particles from beagle dog lungs
Health Physics 28, 81-88, 1975

134) Slater TF
Free radical mechanisms in tissue injury
London: Pion, 1972

135) Slater TF
Mechanism of protection against the damage produced in biological systems by oxygen-derived radicals
Symposium on Oxygen Free Radicals and Tissue Damage der Ciba Foundation vom 6.-8.6.1978 in London

136) Smith GJ, Dunkley WL
Initiation of lipid peroxidation by a reduced metal ion
Arch. Biochem. Biophys. 98, 46-48, 1962

137) Snyder F, Cress EA, Kyker GG
Liver lipid response to intravenous rare earths in rats
J. Lipid Res. 1, 125-131, 1959

138) Sunderman FW
Metal carcinogenesis in experimental animals
Food Cosmetic Toxicol. 9, 105-120, 1972

139) Sykes P
Reaktionsmechanismen in der organischen Chemie, 7. Aufl.
Weinheim: Verlag Chemie, 1976

140) Tappel AL
Vitamin E and free radical peroxidation of lipids
Ann. N. Y. Acad. Sci. 203, 12-28, 1972

141) Tappel AL
Lipid peroxidation damage to cell components
Fed. Proc. 32, 1870-1874, 1973

142) Tappel AL
Protection against free radical lipid peroxidation reactions
Adv. Exp. Med. Biol. 97, 111-119, 1978

143) Tennant R, Johnston HJ, Wells JB
Acute bilateral pneumonitis associated with the inhalation of mercury vapor
Conn. Med. 25, 106-109, 1961

144) Thomas RL, Scott JK, Chiffelle TL
Metabolism and toxicity of inhaled ^{144}Ce in rats
Rad. Res. 49, 589-610, 1972

145) Tokuomi H
Clinical investigations on Minamata disease; Minamata disease in human adult
in: Minamata disease
Kutsuna M (Ed.)
Japan: Kumamoto University, 1968 (37)

146) Trombly R, Tappel AL, Goniglio JG, Grogan WM, Rhamy RK
Fluorescent products and polyunsaturated fatty acids of human testes
Lipids 10, 591-596, 1975

147) Tsubaki T
Clinical and epidemiological aspects of organic mercury intoxication
Proc. Roy. Soc. Can. 131,
Symposium vom 15.-16.2.1971

148) Tuchweber BR, Trost R, Salas M, Sieck W
Effect of praseodymium nitrate on hepatocytes and Kupffer cells in the rat
Can. J. Physiol. Pharmacol. 54, 898-906, 1976

149) Tyler DD
Evidence of a phosphate-transporter system in the inner membrane of isolated mitochondria
Biochem. J. 111, 665-678, 1969

150) Tyler DD
Role of superoxide radicals in the lipid peroxidation of intracellular membranes
FEBS Letters 51, 180-183, 1975

151) Urano S, Matsuo M
A radical scavenging reaction of α-tocopherol with methyl radical
Lipids 11, 380-383, 1976

152) Utley HG, Bernheim F, Hochstein P
Effect of sulfhydryl reagents on peroxidation in microsomes
Arch. Biochem. Biophys. 118, 29-32, 1967

153) Válek A
Acute renal insufficiency in intoxication with mercury compounds; I. Aetiology, clinical picture, renal function
Acta Med. Scand. 177, 63-67, 1965

154) Venitt S, Levy LS
Mutagenicity of chromates in bacteria and its relevance to chromate carcinogenesis
Nature 250, 493-495, 1974

155) Venugopal B, Luckey TD
Toxicology of non-radioactive heavy metals and their salts
in: Heavy metal toxicity, safety and hormology
Luckey TD, Venugopal B, Hutcheson D (eds.)
Stuttgart-New York: Georg Thieme / Academic Press, 1975

156) Wassermann J, Koepp SJ
Ultrastructural effects of mercury on the intact proximal tubule of the euryhalene teleost Fundulus heteroclitus
Proc. Ann. Meet., Electron. Microsc. Soc. Am. 35, 514-515, 1977

157) Watabe T, Yamada N
The biotransformation of 1-hexadecene to carcinogenic 1,2-epoxyhexadecane by hepatic microsomes
Biochem. Pharmac. 24, 1051-1053, 1975

158) Wills ED
Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues
Biochem. J. 99, 667-676, 1966

159) Willson RL
Hydroxyl radicals and biological damage in vitro: what relevance in vivo?
Symposium on Oxygen Free Radicals and Tissue Damage der Ciba Foundation vom 6.-8.6.1978 in London

160) Wood RW, Weiss AB
An analysis of hand tremor induced by industrial exposure to inorganic mercury
Fed. Proc. 30, 221 (abstr.), 1971

161) Yamamoto G, Tanabe M, Hashimoto G, Yamamoto M
Studies on ferrous ion-induced lipid peroxidation of rat liver mitochondria; II. Relationship to incubation temperature
Acta Medicinae Okayama 30, 291-301, 1976

Für die Überlassung des Themas sowie für seine wissenschaftliche Anleitung und stets bereitwillige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. A. Schmid herzlichst.

LEBENSLAUF

Geburtstag:	24.7.1953
Geburtsort:	Oggelshausen, Lkr. Biberach
Eltern:	Anna Friedrich, geb. Witzigmann Eugen Friedrich, Oberlehrer
Familienstand:	verheiratet seit 1980 mit der Dozentin für Daten- und Informationssysteme Berta Friedrich, geb. Hainzlmaier
Schulausbildung:	1960 - 1964 Volksschule in Wangen 1964 - 1972 Gymnasium in Wangen 1972 Abitur
Grundwehrdienst:	1973 - 1974
Studium:	ab Wintersemester 1974 Studium der Veterinärmedizin am Fachbereich Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München
Staatsexamen:	1979 in München
Approbation:	1980